

149

Rej.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA

DE

MEXICO.

Facultad de Ciencias.

CONCENTRACION DE TAURINA

EN LA

LECHE HUMANA.

Tesis

que para obtener el titulo

de

BIOLOGO

Presenta

MARIA EUGENIA ORTIZ FLORES.

Septiembre de 1988.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INDICE .

INTRODUCCION .

I.-	Generalidades sobre la Taurina.	
	a) Propiedades Fisico-Químicas	1
	b) Distribución y Presencia en Vegetales y Animales .	1
	c) Metabolismo	3
	d) Posibles Funciones	6
II.-	Influencia de la Desnutrición Sobre el Desarrollo del Cerebro.	
	a) Generalidades	9
	b) Consecuencias de la Deficiencia en Taurina	10
III.-	La Taurina en la Leche	12
IV.-	Objetivos	13

METODOLOGIA .

I.-	Colecta de Muestras Biológicas	15
II.-	Análisis Cuantitativo	16

RESULTADOS .

I.-	Modificaciones a la Técnica Descrita por Garvin (1960).	17
II.-	Contenido de Taurina en la Leche Materna	27

DISCUSION	48
-------------	-------	----

REFERENCIAS	54
---------------	-------	----

I N T R O D U C C I O N .

I.- GENERALIDADES.

a) Propiedades Fisico-Químicas.

La taurina es un aminoácido azufrado (ácido 2-amino etano sulfónico, $C_2H_7NO_3S$), con peso molecular de 125.1 daltones. Es un compuesto no colorido, que presenta una cristalización de forma tetragonal (Ansell, 1959). Sus constantes fisico-químicas se muestran en la tabla I.

La taurina recibe este nombre por que fué aislada por primera vez de la bilis del toro, en donde se encuentra conjugada con los ácidos biliares. La extracción y descripción de este aminoácido se llevó a cabo por Tiedeman y Gmelin en el año de 1827 (Tiedeman y Gmelin, 1827).

La taurina no forma parte de la estructura de macromoléculas, como proteínas o ácidos nucleicos y aunque se han detectado la presencia de di o tripéptidos, como la γ -glutamil taurina en el cerebro de ratas y ratones (Marnela, **et al**, 1984), al parecer, en todos los tejidos se encuentra en forma libre.

La taurina no participa en ninguna reacción metabólica conocida a excepción de su conjugación en el hígado con los ácidos biliares para formar el ácido taurocólico, por lo que fué considerada durante mucho tiempo como un compuesto inerte y se le supuso un producto final del metabolismo de los aminoácidos azufrados (Awapara, 1976).

b) Distribución y Presencia en Vegetales y Animales.

La taurina se encuentra presente en la mayoría de los tejidos de todas las especies animales hasta ahora estudiadas. Se ha descrito su presencia en todos los phyla de la escala zoológica, incluyendo a los Protozoarios, Poríferos, Braquiópodos y Sipuncúlidos, así como en Anélidos, Artrópodos, Equinodermos y Moluscos, siendo este último grupo el que probablemente contenga las concentraciones más elevadas (Jacobsen y Smith, 1968).

En los cordados, la taurina ha sido encontrada en diferentes tejidos de los urocordados y en los vertebrados se encuentra presente en un gran número de órganos, encontrándose los niveles más altos en el hígado, el riñón, las plaquetas, los linfocitos, el bazo y especialmente en los tejidos excitables como el corazón, el músculo liso y esquelético, el sistema nervioso y en glándulas secretoras. En estos tejidos las concentraciones de

TABLA I. Constantes Fisico-Químicas del Aminoácido Taurina.

Solubilidad (g/100 ml en agua a 25 °C).	Constantes de Ionización		Punto Isoeléctrico
	pK _a	pK _b	
10.48	1.5	8.74	5.16

Insoluble en Etanol y Eter a 25 °C.

(Huxtable, 1982; Andrews y Schmidt, 1927).

taurina oscilan entre 20 y 100 mM, con variaciones que dependen de la especie, sexo, edad y etapa de desarrollo (Jacobsen y Smith, 1968; Crabai, **et al.**, 1979; Kocsis, **et al.**, 1976).

La retina de los vertebrados en particular, es una de las regiones en las que se han encontrado los más altos niveles de taurina (Pasantés-Morales, **et al.**, 1972) los cuales se localizan preferentemente en la capa de los fotorreceptores (Orr, **et al.**, 1976).

Durante el desarrollo embrionario se presentan modificaciones en los niveles de taurina en el cerebro. La concentración de este aminoácido en el tejido nervioso fetal, estudiado en ratas y conejos, es cuatro veces superior a la detectada en el tejido nervioso adulto (Agrawal, **et al.**, 1966a,b). El decremento de la taurina durante el desarrollo se observa en todas las áreas del cerebro, aunque la proporción varía entre ellas (Cutter y Dudzinski, 1974). No se ha podido establecer ninguna correlación entre el desarrollo cerebral y el decremento de los niveles de taurina, que pudiera ser útil para determinar alguna función en particular para este aminoácido. Se ha sugerido que la taurina podría estar involucrada en el establecimiento de los microtúbulos, en el transporte axonal o como un factor de crecimiento no específico en ciertos tejidos (Martin y Patrick, 1961).

En el reino vegetal, la distribución de la taurina es muy limitada, habiéndose encontrado principalmente en las algas marinas tanto en su forma libre como formando sales metiladas (Jacobsen y Smith, 1968; Lindberg, 1955). Dentro de las algas, dicho aminoácido se encuentra principalmente en las especies de la subclase Rhodophyceae, que es predominantemente marina o de ecología sublitoral, mientras que en las otras subclases, tales como Chlorophyceae, Phaeophyceae, Schizophyceae y Heterokontae no ha sido identificada (Ericson y Carlson, 1954; Fowden, 1951).

Son pocos los géneros de hongos que contienen taurina (Close, 1960; Fuerst y Wagner, 1957; Kelly y Weed, 1965).

En las plantas superiores, se ha descrito su presencia en algunas gramíneas, sin embargo las concentraciones establecidas se sitúan entre dos y tres órdenes de magnitud por debajo de aquéllas determinadas en tejidos animales (Lähdesmäki, 1986). En las dicotiledoneas, la taurina fué identificada en los granos de polen, (Marquardt y Vogg, 1952).

c) Metabolismo.

Aunque no se conocen con exactitud los mecanismos de biosíntesis de la taurina se han descrito varias vías por medio de las cuales puede formarse. Algunos organismos tales como el hombre y el gato, tienen una capacidad limitada para sintetizar taurina (Hayes y Sturman, 1981), mientras que en la mayoría de las especies animales la taurina se forma a partir de precursores

endógenos, a través de varios procesos enzimáticos asociados con el metabolismo de los aminoácidos azufrados. En particular, el precursor directo es la cisteína, obtenida ya sea de la dieta o a través de la conversión de la metionina (Jacobsen y Smith, 1968; Awapara, 1976), (Fig. 1).

Se ha concluido que la principal ruta biosintética para la obtención de taurina en la mayoría de los tejidos de los mamíferos, es la que utiliza como precursor a la cisteína. A partir de la cisteína mediante una oxidación enzimática se genera el ácido cisteín sulfínico, éste a su vez es metabolizado a hipotaurina por la acción de la descarboxilasa del ácido cisteín sulfínico, que es dependiente de fosfato de piridoxal. El ácido transformado a ácido cistéico por una oxidación. La hipotaurina o el ácido cistéico pueden convertirse en taurina ya sea por una deshidrogenación o por una descarboxilación respectivamente. Estas dos rutas metabólicas se consideran generalmente en conjunto ya que sólo difieren entre sí, en que la descarboxilación del precursor ácido ocurre antes o después de su oxidación (Chatagner y Bergeret, 1952).

El mecanismo oxidativo de la hipotaurina es incierto, pero existen estudios que sugieren que la reacción se lleva a cabo sin la participación de una enzima determinada, mientras que otros postulan la existencia de una deshidrogenasa capaz de llevar a cabo la catálisis oxidativa (Sumizu, 1962). La enzima limitante en esta ruta metabólica es la descarboxilasa del ácido cisteín sulfínico (DACS). Tanto los intermediarios como las enzimas que participan en esta vía han sido encontrados en la mayoría de los tejidos en los que la taurina está presente aunque no se han determinado las posibles particularidades de la vía en los distintos tejidos. Así por ejemplo, se ha visto que la capacidad de biosíntesis de taurina varía dentro de los diferentes tejidos de un mismo animal; éste es el caso en la rata en la que en el hígado y el riñón, la capacidad biosintética es mayor que en el cerebro, en donde es moderada, y a diferencia del corazón, músculo estriado y linfocitos donde la biosíntesis del aminoácido es limitada.

También hay variaciones que dependen de la especie y de la edad, como en el hígado de perro y rata adulta, en donde la actividad de todas las enzimas requeridas para la biosíntesis es muy importante lo cual le confiere a este órgano una actividad biosintética alta, en comparación con los mismos tejidos de organismos jóvenes, en donde la actividad es menor. Los datos anteriores parecen indicar que los individuos jóvenes dependen más del aporte de taurina de la dieta para mantener los niveles tisulares adecuados del aminoácido.

En el mono, el gato y el humano debido a que la actividad de la DACS en el hígado es muy limitada, la biosíntesis de taurina está restringida (Hayes y Sturman, 1981).

La DACS está presente en el hígado, riñón y cerebro de varias especies, mientras que la deshidrogenasa de la hipotaurina

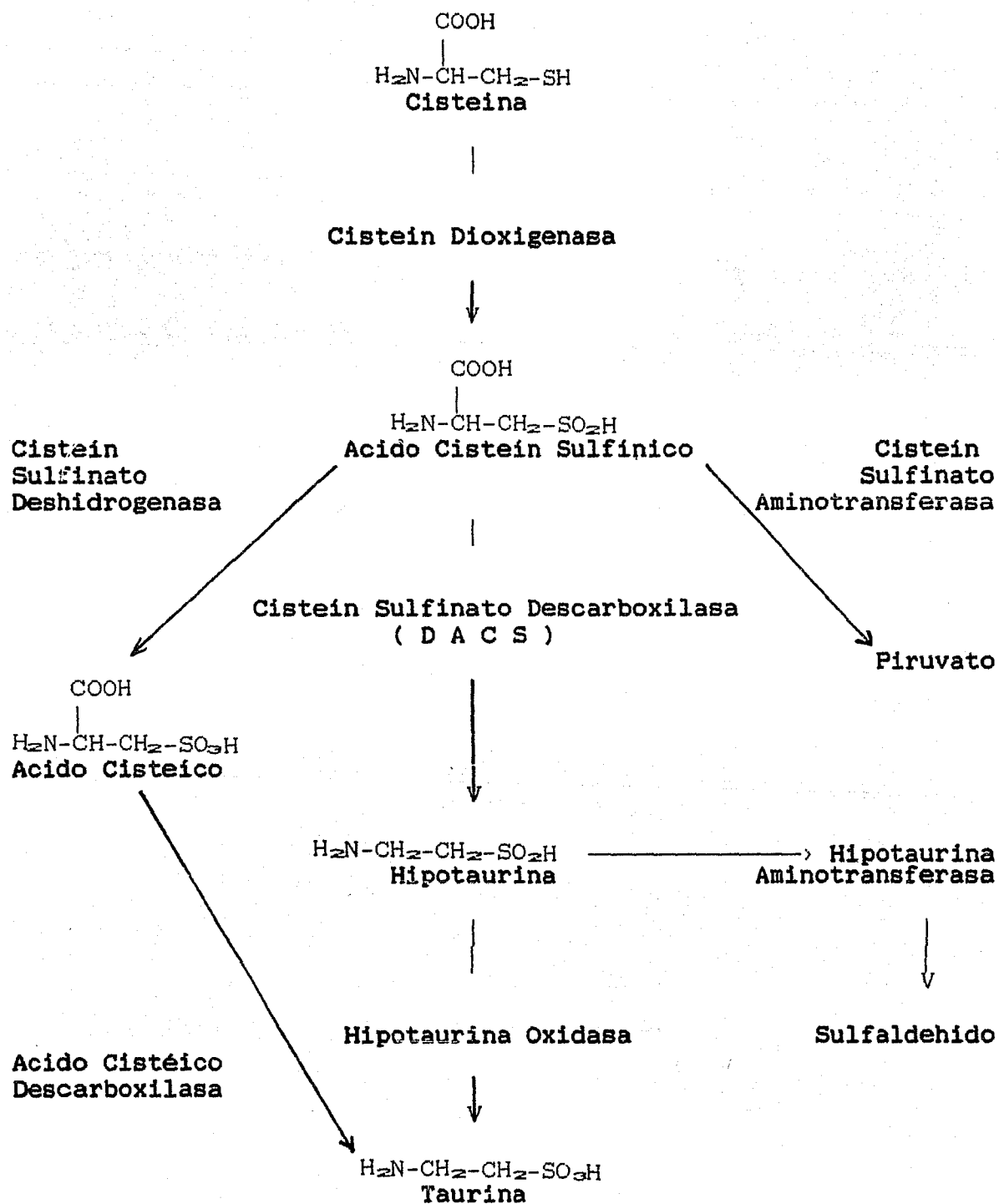


FIG 1.- Metabolismo de la Taurina a partir de la Cisteina.

(Pasantes-Morales, 1986).

se ha encontrado en el hígado, el riñón y el músculo de rata (Sumizu, 1962; Cavallini, **et al**, 1954).

En la Tabla II. se muestra la actividad de la descarboxilasa del ácido cisteín sulfínico en el hígado y el cerebro de diferentes especies, tanto en el estado embrionario, como en el adulto.

En cuanto a la degradación metabólica de la taurina en los tejidos animales, poco se conoce en la actualidad. Los únicos compuestos que han sido considerados como posibles productos de degradación de la taurina son el sulfato inorgánico y el ácido isetiónico (Jacobsen y Smith, 1968), así como la ya mencionada formación del ácido taurocólico, siendo esta una reacción ampliamente distribuida entre los Vertebrados y dependiente de los niveles de taurina sintetizados endógenamente o ingeridos en la dieta.

De la estabilidad química de la taurina o de los mecanismos de degradación prácticamente inexistentes no se puede concluir que la taurina sea utilizada por los tejidos de una forma lenta, ya que en los estudios de Spaeth y Schneider en la rata (1974, 1976), se observa un recambio rápido del aminoácido, menor a un día, en órganos como el hígado, riñón, páncreas y glándula adrenal, mientras que dicho recambio es moderado en pulmón, bazo, intestino y médula ósea y es lento en el corazón, cerebro y músculo esquelético, cuyas pozas presentan una vida media de tres días aproximadamente.

d) Posibles Funciones.

Hasta ahora la función o funciones biológicas que la taurina pueda estar realizando, prácticamente se desconocen y fuera de la participación de la poza hepática de los vertebrados en la formación de ácidos biliares para la absorción de lípidos y su posible papel como regulador osmótico en organismos eurialinos, el significado biológico de su abundancia y gran distribución en tan amplia gama de especies y tejidos sigue siendo una incógnita. Sin embargo, estas mismas características se han interpretado como sugerentes de un papel relevante en la fisiología de los organismos. La información con la que se cuenta sobre las acciones de la taurina en los tejidos, no es, sin embargo, escasa.

Se ha observado que el aminoácido ejerce una serie de efectos farmacológicos y se le ha involucrado en una amplia gama de eventos fisiológicos. Así por ejemplo, y como se mencionaba anteriormente, en los Vertebrados marinos, particularmente en las especies eurialinas que poseen una amplia tolerancia a cambios de salinidad, se ha observado que las modificaciones en la osmolaridad del medio consisten en la regulación de las concentraciones intracelulares de los aminoácidos libres, entre los que participa la taurina, al parecer como un efector osmótico

TABLA II.- Actividad de la DACS en Tejidos Embrionario y Maduro de algunos Mamíferos.

Especie	Tejido	Actividad de la DACS nmol CO ₂ producido/mg proteina/hr.	
		Adulto	Feto
Hombre	Higado	0.3	0.3
	Cerebro	4.8	N.D.
Mono Rhesus	Higado	5.0	3.5
	Cerebro	4.8	N.D.
Rata	*Higado	468.0	8.8
	Cerebro	63.0	1.4
Gato	Higado	4.5	7.1
	Cerebro	59.0	6.1
Conejo	Higado	14.3	16.4
	Cerebro	25.0	8.3
Cobayo	Higado	3.0	1.7
	Cerebro	5.6	4.2

N.D. = no determinado.

(Sturman y Kenneth, 1980)

(Florkin y Schoffeniels, 1965; Vislie, 1983). También se ha reportado una interacción de la taurina con flujos iónicos en preparaciones de tejido nervioso de Vertebrados e Invertebrados (Gruener y Bryant, 1975; Pasantes-Morales, **et al**, 1982). Igualmente se ha demostrado que este aminoácido presenta una acción inhibitoria sobre la actividad neuronal, similar a la ejercida por los aminoácidos neurotransmisores ácido- γ -aminobutirico (GABA) y glicina (Curtis y Tebécis, 1972; Curtis y Johnston, 1974; Pasantes-Morales, **et al**, 1973). Sin embargo en la mayoría de las áreas del cerebro examinadas, la taurina tiene una acción depresora bastante débil y generalizada; además no se ha podido probar la especificidad de su acción sobre la actividad neuronal debido en parte a la carencia de agentes que interfieran específicamente con su acción y tampoco se han identificado receptores sinápticos, que pudieran sustentar la proposición de una papel para la taurina como neurotransmisor.

Uno de los efectos farmacológicos mejor conocidos de la taurina en el sistema nervioso es su acción anticonvulsivante generalizada en una amplia gama de modelos de epilepsias, tanto espontáneas como inducidas experimentalmente. Inicialmente se observó una reducción en los niveles de taurina en focos epileptógenos humanos (Van Gelder, **et al**, 1972). Barbeau y Donaldson (1974) fueron los primeros en describir resultados positivos en humanos epilépticos tratados con taurina. Posteriormente este trabajo fué confirmado en estudios, donde la taurina se administraba intravenosamente (Striano, **et al**, 1974; Bergamini, **et al**, 1974; Borromei, **et al**, 1975) y en otros en donde se administró por vía oral (Barbeau, **et al**, 1976; Takahashi y Nakane, 1978).

Los mecanismos mediante los cuales la taurina actúa como un agente anticonvulsivo se desconocen, pero se ha sugerido que estos efectos podrían deberse a su actividad como neuromodulador o a través de una acción sobre flujos iónicos, particularmente de calcio (Pasantes-Morales y Gamboa, 1980). Además, su interacción con las cargas negativas de las cabezas polares de los fosfolípidos podría proveer una estabilidad generalizada de las membranas nerviosas.

Debido a que los niveles de taurina en los tejidos musculares son altos, se podría pensar que este aminoácido juega un papel importante en los procesos contráctiles. Se ha observado en humanos que en el corazón normal, la taurina constituye el 50% del contenido total de aminoácidos libres (Chatagner, y Bergeret, 1952; Huxtable, 1976). En pacientes con insuficiencia cardíaca congestiva (Huxtable y Bressler, 1974) y en el músculo distrófico (Baskin y Dagirmanjian, 1973) las concentraciones basales de taurina se encuentran aumentadas.

Además se ha demostrado que la taurina regulariza el ritmo cardíaco en casos de arritmias producidas por adrenalina o digitálicos (Read y Welty, 1963; Welty y Read, 1964) y también que presenta **per se** una acción ionotrópica positiva (Dolara, **et al**, 1973).

La acción fisiológica de la taurina en la función muscular, hasta la fecha carece de suficientes evidencias para determinar su mecanismo de acción pero se ha sugerido que podría estar relacionada con los flujos de calcio y/o potasio a través de la membrana, o bien con la disponibilidad de la poza interna de calcio relacionada con el mecanismo de excitación-contracción.

Recientemente se ha demostrado que la taurina se transporta dentro de los axones ópticos de la carpa y subsecuentemente se observó lo mismo en los mamíferos. En el conejo y la rata se observó que dicho transporte es mayor durante el desarrollo y previo al período de mayor formación sináptica (Sturman y Kenneth, 1980).

El significado fisiológico del transporte axonal de taurina durante el desarrollo de los nervios de los mamíferos no se conoce, aunque se puede especular sobre si la taurina puede regular la actividad eléctrica y así facilitar el desarrollo de los axones y la formación de las conexiones sinápticas.

La gran cantidad de taurina transportada a lo largo del axon antes y durante la sinaptogénesis podría servir como un estabilizador de las propiedades eléctricas de los axones hasta completar la formación de la sinapsis (Sturman y Kenneth, 1980).

II.- INFLUENCIA DE LA DESNUTRICION SOBRE EL DESARROLLO DEL CEREBRO.

a) Generalidades.

En el sistema nervioso, dependiendo de la región específica o de la especie de que se trate, las deficiencias nutricionales son más críticas en los períodos perinatales, que en otras etapas en las que el desarrollo se ha completado.

Las modificaciones que ocurren en el cerebro a consecuencia de la desnutrición incluyen alteraciones anatómicas, estructurales, bioquímicas, funcionales y conductuales. Las alteraciones morfológicas van desde la disminución en el tamaño y el peso del cerebro, un decremento en el número de células, en especial de las células gliales (Winick y Rosso, 1969; Winick, **et al**, 1968), defectos en la migración y organización de las capas celulares en la corteza cerebral, la corteza cerebelar y en el hipocampo (Zamenhof, **et al**, 1968; Barnes y Altman, 1973a; Ordy, 1971) y alteraciones en el desarrollo de los procesos celulares, como por ejemplo en la arborización de las células de Purkinje (Barnes y Altman, 1973b).

De las modificaciones estructurales y funcionales, algunas de las más notables son la deficiencia en la mielinización, con la consecuente reducción en la velocidad de conducción de los

impulsos nerviosos (Benton, **et al**, 1966).

A nivel celular se detecta una reducción en las mitosis de las células inmaduras (Patel, **et al**, 1973). A nivel sináptico existe una disminución en el número de sinapsis (Patel, **et al**, 1973) especialmente en el cerebelo. En cuanto a las alteraciones bioquímicas las más importantes son: la disminución en la concentración de lípidos complejos como el colesterol, los fosfolípidos y los glucolípidos (Paoletti y Galli, 1972).

Respecto a los compuestos con acción neurotransmisora, también se han descrito alteraciones en los niveles de norepinefrina, dopamina y serotonina (Showmaker, **et al**, 1974).

Por los estudios de Cravioto y col, se sabe que la desnutrición temprana en niños, conduce a deficiencias irreversibles en la capacidad de aprendizaje (Cravioto y Robles, 1965; Cravioto, **et al**, 1966). La posibilidad de que las modificaciones inducidas por la desnutrición sean reversibles y desaparezcan cuando se restauran los niveles adecuados de nutrición depende del tipo de desnutrición y la severidad del cambio con respecto a la nutrición óptima, la etapa del desarrollo en la cual ocurre la desnutrición y la duración de la deficiencia nutricional (Wiener, 1972; Hatai, 1907).

b) Consecuencias de la Deficiencia en Taurina.

Los tejidos animales muestran una gran capacidad para mantener sus altas concentraciones de taurina ya sea por una elevada tasa de biosíntesis endógena y/o, como ocurre en la mayoría de los tejidos, a través de un eficiente sistema de transporte que captura el aminoácido del plasma, de modo que resulta muy difícil modificarlas experimentalmente. Esto se ha conseguido empleando dos enfoques experimentales: 1) en especies como el gato (Hayes, **et al**, 1975a) que depende casi por completo del aporte de taurina de la dieta ya que tiene una mínima capacidad para sintetizarla, eliminando los componentes de la dieta que contengan taurina y 2) en animales que sí la sintetizan como son la mayoría de las especies, en los tejidos que no la forman endógenamente sino que la obtienen de aquélla sintetizada en otros tejidos, circulante en el plasma, mediante el bloqueo del proceso de transporte (Quesada, **et al**, 1984).

A la fecha se ha establecido con certeza que la taurina es un constituyente esencial de la dieta para los gatos y que cuando éstos son mantenidos con dietas libres de taurina, sus niveles tisulares disminuyen progresivamente. Paralelamente a dicha disminución, se han observado alteraciones muy marcadas en la retina (Hayes, **et al**, 1975a; Berson, **et al**, 1976; Pasantes-Morales, **et al**, 1986) y en el desarrollo del cerebro (Sturman, **et al**, 1985b). Estos estudios han demostrado que los gatos recién destetados, mantenidos parcialmente con una dieta sintética libre

de taurina y con caseína como fuente protéica desarrollan una degeneración central en la retina. Cuando la reducción en los niveles de taurina excede el 50% de lo normal, esto conduce a la desaparición de la respuesta bioeléctrica, el electroretinograma (Hayes, **et al**, 1975a) y posteriormente a una degeneración de los fotorreceptores, que lleva aparejada una severa alteración en la función visual, que culmina en estados avanzados de deficiencia, con la muerte celular y la ceguera (Hayes, **et al**, 1975a; Berson, 1982). La degeneración de la retina se inicia en el área central con un cambio en la zona granular convirtiéndola en una zona hiperreflectiva y posteriormente afectando la periferia. Ultraestructuralmente estos cambios están caracterizados por vesiculación, desorientación y desintegración de las células fotorreceptoras, iniciándose el proceso en los segmentos externos (Hayes, **et al**, 1975ab; Schmidt, **et al**, 1977).

Esta degeneración se previene o se revierte en sus estadios tempranos con una dieta suplementada únicamente con taurina, lo cual no ocurre proporcionando otros aminoácidos, incluidos los precursores de la taurina (Berson, **et al**, 1976).

También se ha reportado que la disminución en los niveles de taurina en la retina de los gatos, reduce el número de capas de las células del tapetum lucidum, la capa de células epiteliales que reflejan la luz, reduciendo y produciendo una severa desorganización de los bastones tapetales (Sturman y Kenneth, 1980).

En el encéfalo, los efectos de la disminución en los niveles de taurina no se aprecian en el adulto, pero recientemente se ha observado en gatos nacidos de madres deficientes en taurina, una alteración cerebelar consistente en la persistencia de las células de la capa granular que no migran adecuadamente (Sturman, **et al**, 1985a).

Este retraso en el proceso normal de la migración celular se asocia con una severa escoliosis, que es el encorvamiento de la columna vertebral hacia un lado, y la consecuente falta de coordinación en la marcha. Este patrón de alteración ocurre cuando la concentración de taurina en la leche materna disminuye de su valor normal de 290 a 19 nmolas/100ml (Sturman, **et al**, 1985b).

Cuando la deficiencia de taurina se inicia desde los primeros días del embarazo, se manifiesta en los recién nacidos una severa alteración en la organización de las capas celulares de la corteza cerebral (Sturman, **et al**, 1985b).

Se ha observado que los gatos nacidos de madres alimentadas con una dieta carente de taurina por un período prolongado, presentan una serie de problemas durante la etapa de gestación, que se expresan como un incremento en la frecuencia de reabsorción fetal, abortos, nacimiento de productos muertos y cuando las crías sobreviven, presentan un bajo peso corporal, en comparación con animales controles, nacidos de hembras

alimentadas con una dieta suplementada con taurina (Sturman, et al, 1985a).

Cabe aquí hacer hincapié en que si bien se han descrito distintas modificaciones en el desarrollo del cerebro y en tejidos del sistema visual como consecuencia de una deficiencia en taurina, no se quiere decir que sean las únicas. Hasta el presente, poco se ha explorado acerca de las repercusiones que puede tener el abatimiento de las pozas de taurina en otros tejidos que como el cardiaco, muscular liso y esquelético o hepático contienen cantidades considerables del aminoácido.

Ya que el hombre es una especie con una pobre capacidad de biosíntesis de taurina, y un requerimiento alto, en particular para la síntesis del ácido taurocólico, es previsible que exista un requerimiento exógeno importante para cubrir sus necesidades y por ende un riesgo potencial de sufrir una deficiencia cuando el aporte dietario no sea el adecuado.

De hecho se ha observado que la alimentación de lactantes con fórmulas artificiales libres de taurina provoca una reducción rápida de su concentración circulante (Järvenpää, et al, 1982) y en otros estudios se ha reportado que tales reducciones, aunque no reflejan las concentraciones intracelulares de taurina, se han visto acompañadas con trazos electroretinográficos anormales los que se han podido corregir por la suplementación de la dieta con el aminoácido (Geggel, et al, 1982).

Los posibles efectos de una deficiencia en taurina a nivel del desarrollo del cerebro y de otros tejidos en distintas etapas de madurez en el humano no se han explorado todavía.

III.- LA TAURINA EN LA LECHE.

En todas las especies de mamíferos que se han examinado, la taurina es uno de los aminoácidos más abundantes en la leche, constituyendo un 20% o más, de el total de los aminoácidos libres siendo excedida sólo por el ácido glutámico.

La leche constituye por supuesto la única fuente exógena de nutrientes durante la lactancia y por ende también de taurina. Sin embargo la importancia que reviste este aporte para el lactante puede ser muy distinta dependiendo de la capacidad de biosíntesis de la especie de que se trate así como de sus necesidades particulares.

Evidentemente, para aquéllas especies cuya biosíntesis endógena es limitada, el aporte de taurina a través de la leche reviste gran importancia. Sin embargo, aún en aquéllas otras que poseen la maquinaria enzimática suficiente para obtenerla, se ha observado que el aporte del aminoácido recibido a través de la leche también contribuye en una proporción importante a las pozas tisulares (Huxtable y Lippincott, 1983).

En la leche de algunas especies, la mayor concentración de taurina se observa en los primeros días después del parto (Gaul, 1982).

En el gato durante la lactancia, la taurina obtenida de la dieta, básicamente de la carne, se transfiere de la madre al recién nacido a través de la leche (Sturman, **et al**, 1985b). Al someter a las hembras lactantes a una dieta deficiente en taurina, la concentración del aminoácido en la leche disminuye a menos del 10%, lo que trae como consecuencia un aporte anormalmente bajo hacia las crías, dando lugar a la deficiencia y a las alteraciones antes mencionadas.

Asimismo se ha descrito que en monos jóvenes alimentados por periodos prolongados con leches de fórmula para lactantes humanos carentes de taurina, se desarrollan alteraciones estructurales en los fotorreceptores, viéndose afectada principalmente la zona foveal. Paralelamente a estos cambios, se observan reducciones en la amplitud del ERG y en la agudeza visual (Sturman, **et al**, 1984).

En la tabla III se muestra la cantidad de taurina en la leche de diferentes mamíferos, en los primeros 5 días después del parto y en días posteriores a este periodo.

De toda la evidencia experimental reseñada se desprenden las siguientes conclusiones:

- 1).- A pesar de que no se conoce con precisión la función o funciones que desempeña la taurina en los diferentes tejidos donde esta presente, se sabe que participa de manera crítica en la fisiología de algunos tejidos, ya que su ausencia provoca alteraciones fisiopatológicas serias, en ocasiones como en la retina, con carácter irreversible. Las necesidades de taurina varían con la especie, sin embargo, durante el desarrollo la demanda del aminoácido parece ser mayor.
- 2).- Para algunas especies, como el gato, el mono y al parecer el hombre, es necesario un aporte exógeno de taurina para mantener las pozas tisulares en valores normales.
- 3).- La leche, normalmente rica en taurina constituye la única fuente del aminoácido durante la lactancia.

IV.- OBJETIVOS.

El proyecto en el que se encuentra inserto el presente estudio, pretende establecer el contenido de taurina en la leche humana en nuestra población, así como los factores nutricionales

Tabla III. Taurina en la Leche.

Especies	Menos de 5 días	Más de 5 días
	después del parto.	después del parto.
μmol de Taurina / 100 ml.		
Perro	264	191
Chimpance	71	26
Oveja	68	14
Rata	63	15
Mono Rhesus	61	56
Puerco	56	-
Hombre	41	34
Vaca	31	1
Gerbil	-	595
Gato	-	287
Ratón	-	75
Baboon	-	38
Cuyo	-	17
Mono de Java	-	14
Conejo	-	14
Caballo	-	3

- = No determinado.

(Rassin, **et al**, 1978).

que lo podrían modificar. Para ello, el presente trabajo se orientó primeramente al establecimiento de las condiciones analíticas requeridas, y en segundo lugar en el estudio y establecimiento de los tiempos y formas de colecta de las muestras biológicas, considerando básicamente: primero, las oscilaciones del contenido de taurina en la leche a lo largo del día y de una toma, así como su posible correlación con las horas de ingestión de alimentos de la madre y con la edad del lactante. Las condiciones aquí establecidas se consideran de primera importancia para llevar a cabo las siguientes etapas del proyecto, orientado en su fase final a estimar las posibilidades de que, dados ciertos factores nutricionales de la madre, se modifique su contenido de taurina en la leche, y por tanto el aporte que el lactante recibe, particularmente en los primeros meses de vida. Dicha valoración a su vez, podría apuntar indirectamente a los posibles riesgos de una deficiencia en taurina en infantes.

METODOLOGIA.

I.- Colecta de Muestras Biológicas.

En el muestreo se llevaron a cabo dos tipos diferentes de colectas de leche que a continuación se describen:

1.- Colectas Diurnas en las cuales se establecieron dos grupos:

a) Colectas Continuas, durante 5 días consecutivos anotando el tiempo de ingesta de alimentos de la madre y la hora de colecta de las muestras de leche, tomando los 3 primeros ml secretados cada vez que el bebé era amamantado.

b) Colectas a lo Largo de un Día tomando 3 ml de leche cada vez que el bebé era amamantado, durante 24 hrs cuidando de tomarlas antes de dar la leche al bebé.

En estas colectas las muestras se agruparon de acuerdo a la edad del lactante en dos grupos; el primero de ellos con bebés de 1 a 3 meses y el segundo de 4 a 6 meses de edad.

2.- Colectas Durante el Vaciado de uno de los Senos, colectando a una hora fija (12:30 AM) muestras consecutivas de 3 ml cada una, de los primeros 21 ml de leche de un sólo seno.

Una vez tomadas las muestras de leche, éstas fueron transportadas al laboratorio a 4°C y se almacenaron en el congelador a -4°C tratando de que el tiempo de almacenaje, entre la colecta y la fase analítica fuera el mínimo.

II.- ANALISIS CUANTITATIVO.

El análisis cuantitativo de la taurina en la leche materna humana, la técnica de extracción de los ácidos solubles y la separación de este aminoácido, se basa en los reportes de Garvin (1960), Pasantes-Morales y col. (1972) y de Geddes y Wood (1984) con algunas modificaciones.

A continuación se describe la metodología finalmente establecida en el presente estudio.

- 1.- Extracción Alcohólica de los Aminoácidos: a una muestra de leche, habitualmente de 1 ml, se añade alcohol etílico al 70% en una proporción de 1:9; la mezcla se agita por espacio de 1 minuto en un agitador tipo vortex, con el fin de precipitar las proteínas y obtener en forma soluble los aminoácidos libres. La muestra se centrifuga por espacio de 10 minutos en una centrifuga clínica a 3,500 rpm y al término de la centrifugación se recupera el sobrenadante.
- 2.- Deslipidización: la leche materna contiene una cantidad considerable de lípidos por lo cual es necesario proceder a deslipidizar las muestras, lo cual se lleva a cabo de la siguiente forma: se mezcla el extracto alcohólico con cloroformo en una proporción de 1:5; se agitan las muestras durante un minuto y se centrifuga durante 10 minutos en una centrifuga clínica a 3,500 rpm. Como resultado del tratamiento, en las muestras se forma una bifase cuya parte superior es transparente y homogénea; esta fase acuosa contiene los aminoácidos libres y se recupera con una pipeta pasteur.
- 3.- Cromatografía en Columna de Intercambio Catiónico (50W-X8): A las muestras así obtenidas se les ajusta el pH a 1 con HCl 3N (ver resultados) se aforan a 1 ml con agua bidestilada a pH 1 y se hacen pasar a través de columnas de intercambio catiónico empacadas con resina 50W-X8 (Bio Rad, 100-200 mesh), activada previamente con HCl 2N y después lavada con agua bidestilada hasta obtener al pH de la misma (ver resultados). La resina se empaca en pipetas pasteur hasta aproximadamente 7 cm de altura y 0.5 cm de diámetro con agua bidestilada. Las muestras se eluyen con HCl a pH 1.5 y se colectan los 3 primeros ml del eluido de la columna que posteriormente se neutralizan con KOH 7N.
- 4.- Cuantificación por Medio de una Reacción Fluorescente: la taurina fue determinada por medio de la formación del derivado orto-ftalaldehído-taurina. El reactivo orto-ftalaldehído (OPT) se preparó de acuerdo a la técnica descrita por Gaitone y Short (1971) de la siguiente manera: 10 mg de OPT + 9 ml de un amortiguador

de boratos 0.4M, pH de 10.4 + 0.5 ml de β -Mercaptoetanol + 0.5 ml de Metanol.

La fluorescencia del derivado OPT-Taurina en cada muestra se comparó con el que se obtiene de la lectura de una curva patrón de taurina con valores de concentración conocido de 12.5, 25.0, 50.0, 100.0 y 200.0 nmolas, preparada para cada conjunto de muestras cuantificadas en un mismo día.

Tanto las muestras como la curva patrón fueron analizadas como a continuación se indica: a 1 ml del eluido (muestra) se agregó 1 ml de amortiguador de Acetato de Potasio 0.1 M a pH 5.55, 0.8 ml de agua bidestilada y 0.2 ml de OPT.

La reacción fluorescente se midió en un espectrofluorómetro empleando un espectro de excitación y emisión de 370 y 465 nm respectivamente.

- 5.- Cromatografía Líquida de Alta Presión (HPLC): para verificar que la técnica fuera confiable, tanto en su fase de separación como de detección fluorométrica, algunas muestras de leche se reanalizaron en un sistema de mayor resolución como lo es la cromatografía líquida de alta presión (aparato Mod. Beckmann) y se observó que en el volumen colectado ($V_r = 3$ ml) la columna de intercambio catiónico solamente deja pasar la taurina y retiene todos los demás aminoácidos (ver resultados).

RESULTADOS.

I.- MODIFICACIONES A LA TECNICA DESCRITA POR GARVIN (1960).

a) Extracción.

Inicialmente se observó que el uso del ácido perclórico para la extracción de los aminoácidos, da una recuperación del 50% aproximadamente y al final del proceso cuantitativo, la recuperación global es del 16%.

Por este motivo se revisó experimentalmente la recuperación de taurina en el primer paso de la técnica, lavando varias veces y aumentando el volumen de ác. perclórico. Así, de 2 ml se pasó a usar 9 ml en la extracción y 4.5 ml en los lavados. Los resultados de estas manipulaciones se muestran en la Tabla No. IV.

Como se puede observar en estas modificaciones metodológicas, el ác. perclórico tiene un bajo rendimiento para la extracción de los ácidos libres, por lo que se consideró

**Tabla No. IV. Recuperación de Taurina-³H de una Muestra de Leche
Extraída con Acido Perclórico.**

Relación muestra Ac. Perclórico (v/v).				
1:2			1:9	
	Radioactividad*		Radioactividad*	
	Recuperada(%)	Acumulada(%)	Recuperada(%)	Acumulada(%)
Muestra	100.00		100.00	
Extracción	54.13	54.13	60.50	60.50
1er. Lavado	1.25	55.38	1.50	62.00
2do. Lavado	0.18	55.56	1.20	63.20
3er. Lavado	0.13	55.69	—	—

* 1µCi de taurina-³H en cada experimento.

— = No Determinado.

implementar un tipo diferente de extracción como es la alcohólica (Alcohol Etílico al 70%), para ello se usó 1 ml de leche más 1 μCi de taurina- ^3H y 9 ml de alcohol etílico al 70%. Los lavados se llevaron a cabo con 4.5 ml más de alcohol. Los resultados se muestran en la Tabla No. V.

De el experimento anterior se concluyó que la extracción alcohólica es el mejor método para recuperar una mayor cantidad de taurina de las muestras de leche. Al observarse que los lavados no mejoraban ostensiblemente la recuperación, rutinariamente se omitió esta fase del procedimiento.

b) Deslipidización.

El efecto de la deslipidización sobre la recuperación de taurina se verificó posteriormente utilizando 1 ml de leche conteniendo taurina radioactiva (1 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$) al que se agregaron 5.0 ml de cloroformo. Después de mezclar y centrifugar, se midió el contenido de taurina en la fase acuosa. Los resultados se muestran en la Tabla No. VI.

Estos resultados, indican que durante la deslipidización prácticamente no se pierde taurina, por lo que el procedimiento no fué modificado.

c) Columna de Intercambio Iónico.

Con el fin de evaluar la capacidad de separación de la columna conformada por una sola resina, se estimó su resolución utilizando una mezcla de taurina- ^3H y ácido L-aspártico- ^{14}C , debido a que ambos aminoácidos poseen un valor de pK muy cercano entre sí, y por tanto se comportarían de manera muy similar dentro de este tipo de columna.

En estos experimentos se modificó el pH tanto de la muestra como del líquido de elución, por ser éste un factor crítico en el mecanismo de separación por cromatografía en columna. De los resultados obtenidos (Tabla VII) se concluyó que el pH óptimo para la muestra es de 1 y de 1.5 para el líquido de elución.

Una vez establecidas todas estas condiciones se procedió a pasar una muestra radioactiva de Taurina- ^3H para determinar el volumen a colectar del eluido de la columna. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura No. 2. Como se puede observar, colectando los tres primeros mililitros del eluido la recuperación es alrededor del 90%.

**Tabla No. V. Recuperación de Taurina-³H de una Muestra de Leche
Extraída con Alcohol Etilico al 70%.**

	Extracción	1er. Lavado	2do.Lavado	Total de Tau Recuperada.
% Recuperado del Total.**	77.54	1.3	0.13	78.50

* 1 μ Ci de Taurina-³H por experimento.

** Promedio de 3 experimentos.

Tabla No. VI: Recuperación de Taurina-³H Después de la Deslipidización de la Muestra.

	Radioactividad* (cpm)	Recuperado (%)
Muestra	42 011	100.00
Fase Acuosa (Después de la Deslipidización).	41 897	99.73

* 1 μ Ci de Taurina-³H.

Tabla No. VII: Capacidad de Resolución de la Columna de Intercambio Catiónico en Función del pH de la Muestra y del Líquido de Elución.

M U E S T R A *	pH	ELUYENTE pH	RECUPERACION ** (%)
Aspartico + Taurina	1.0	2.0	Asp 9.16 Tau 54.75
Aspartico + Taurina	1-1.5	1.0	Asp 93.00 Tau 99.00
Aspartico + Taurina	1.0	1.5	Asp 6.90 Tau 84.20

* Para cada experimento se empleó:

Taurina-³H: 1 µCi; Taurina no radioactiva 0.5 µmolas.

L-Aspártico-¹⁴C: 0.1 µCi; L-Aspártico no radioactivo 0.5 µmolas.

** El porcentaje de radioactividad recuperado corresponde al obtenido en los primeros 3 ml de elución.

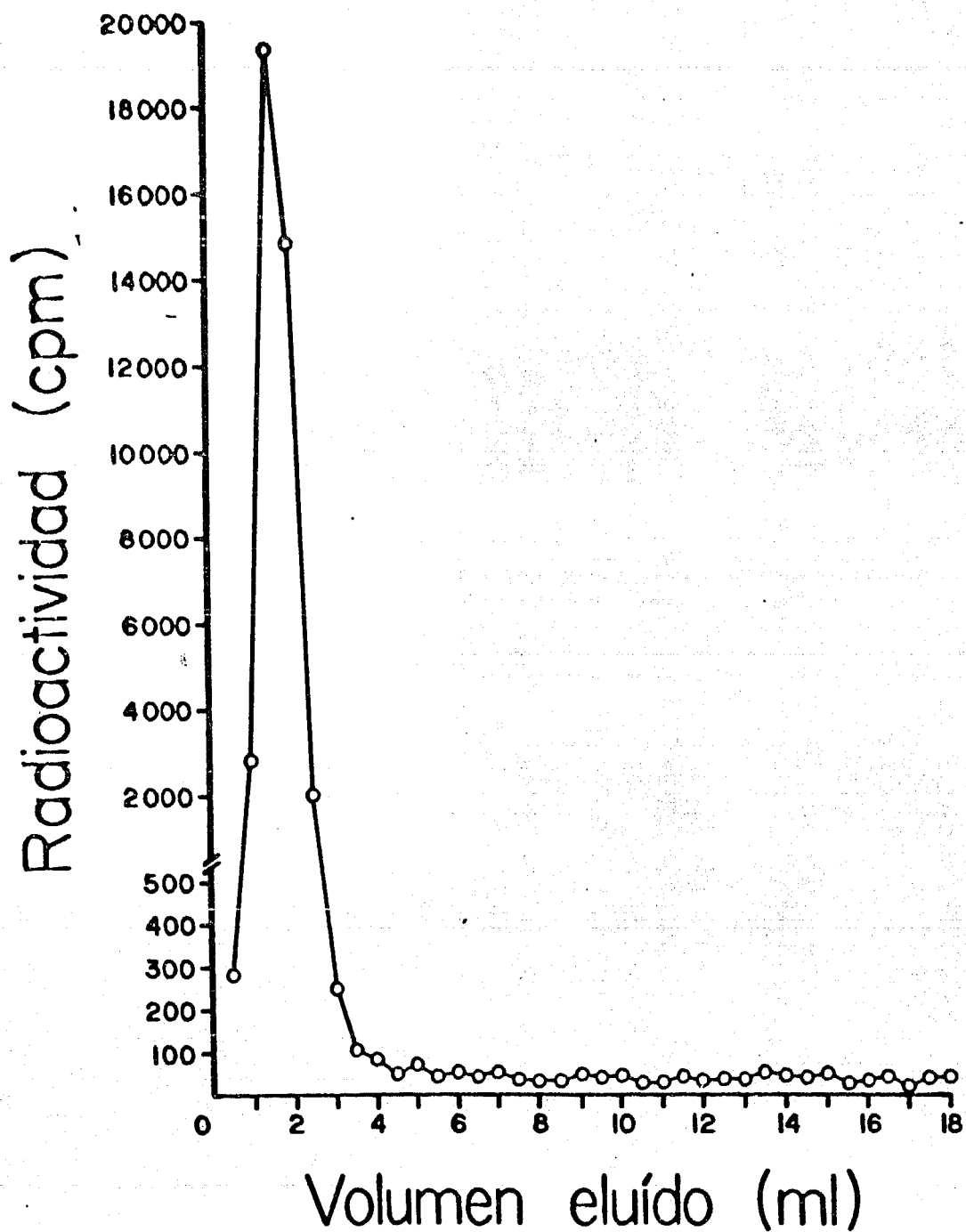


Fig. 2.- Perfil de Elución de Taurina- ^3H en una Columna de Intercambio Catiónico (50W-X8).

Para este análisis se empleó:
 1 μCi de Taurina- ^3H y 0.5 μmol as de Taurina no radioactiva.

Con el objeto de evaluar las condiciones finalmente establecidas en cuanto a la capacidad de resolución de la columna para una mezcla de aminoácidos, se realizó un ensayo final con ocho aminoácidos juntos, en solución (taurina, ác. glutámico, ác. aspártico, treonina, prolina, isoleucina, arginina y serina) a una concentración de 100 nmolas/ml cada uno. Paralelamente, en una segunda columna se corrió una muestra similar, en la que se omitió sólo la taurina mientras que una tercera fué eluida sin aminoácidos (blanco). En los tres casos las muestras, a un pH de 1, se eluyeron con ácido clorhídrico, pH 1.5, colectándose sólo los primeros 3 mililitros del eluado. En éstos, se cuantificó el contenido de aminoácidos por fluorometría. Los resultados se muestran en la Tabla No. VIII.

Como puede observarse, la columna de intercambio catiónico es capaz de separar la taurina de la mezcla, recuperándose en los 3 primeros ml, más del 90% del aminoácido introducido; la contaminación por otros aminoácidos es prácticamente nula, según lo indican los resultados de la segunda columna.

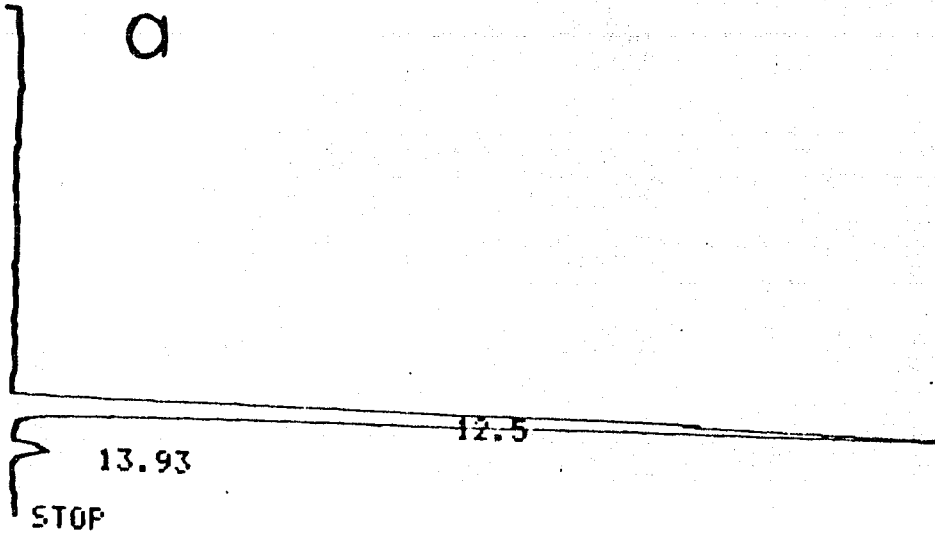
Para poder confirmar lo anterior, se analizó en un cromatógrafo de alta resolución (HPLC) un estandar de taurina y una muestra de leche, antes y después, de eluirla por la columna de intercambio catiónico (50W-X8). Los perfiles cromatográficos de alta resolución se muestran en la Fig. 3. en donde podemos observar claramente que la columna de intercambio catiónico (50W-X8) sólo permite el paso de taurina, y por tanto lo que se lee en la reacción fluorométrica es únicamente este aminoácido.

Tabla No. VIII: Capacidad Resolutiva de la Columna de Intercambio
Catiónico.

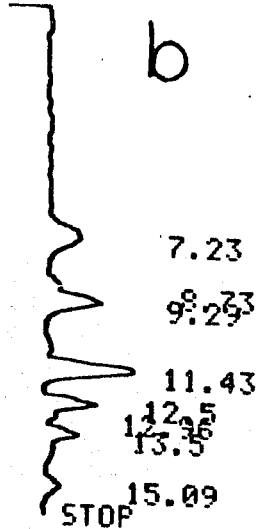
M U E S T R A S A.A. Mezclados.	nmolas Determinadas.	nmolas Calculadas Menos el Blanco.
Col.1 Taurina Ac. Aspártico Ac. Glutámico Treonina Prolina Isoleucina Arginina Serina	108.9	91.5
Col.2 Ac. Aspártico Ac. Glutámico Treonina Prolina Isoleucina Arginina Serina	18.2	-0.2
Col.3 Ninguno	18.4	

Cada aminoácido fué utilizado a una concentración de 100 nmolas/ml en todos los casos.

START 00.00.00.00.



START 00.00.00.00.



START 00.00.00.00.

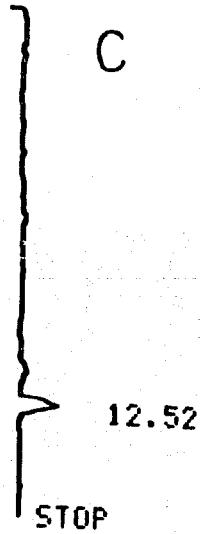


Fig. 3.- Perfiles cromatográficos de alta resolución (HPLC) de un estándar de taurina (a) y de una muestra de leche antes (b) y después (c) de ser cromatografiada por la columna de intercambio catiónico utilizada en los análisis. En (c) se observa un sólo componente que corresponde a la taurina, identificada por comparación con el estándar (a).

II.- CONTENIDO DE TAURINA EN LA LECHE MATERNA.

Los resultados obtenidos en cuanto a la concentración de taurina en la leche materna se muestran a partir de la Fig. 4.

De las colectas continuas a lo largo de 5 días consecutivos, tomando en consideración la ingesta de alimentos por parte de la madre, los resultados se muestran en la Fig 4.

Los resultados de estas 3 series de leche, en conjunto e individualmente muestran que la cantidad de taurina en la leche no es dependiente de la ingesta de alimentos ya que después de las comidas, que es cuando hay un mayor aporte exógeno de nutrientes, no se presenta en todos los casos una tendencia particular en la concentración de este aminoácido, sino que se observan oscilaciones en ambos sentidos aún después de la ingestión más fuerte de alimentos, que en los casos estudiados fué la comida.

Individualmente se observa que las oscilaciones no siguen un patrón determinado y ocurren sobre un valor medio particular para cada donante. Así, mientras que el valor promedio en 5 días para la mujer lactante A es de 200 nmolas/ml aproximadamente, el de las mujeres lactantes B y C es de al rededor de 100 nmolas/ml. Las variaciones sobre el valor promedio son asimismo, amplias e irregulares en el transcurso de los 5 días exáminados. En efecto, mientras que dichas oscilaciones representan un máximo de 27% en la serie B, estas alcanzan el 50 y 44% en las series C y A, respectivamente.

Respecto a las colectas durante el vaciado de uno de los senos los resultados se muestran en las figuras 5, 6 y 7 en donde además de cuantificar la taurina se cuantificaron el ác. glutámico, la glicina y la alanina.

En estas colectas podemos observar que la concentración de taurina se mantiene relativamente constante en el transcurso del amamantamiento del lactante; en los tres casos analizados, las variaciones en cantidad de este aminoácido entre los valores mínimo y máximo son pequeñas, del orden de 33, 39 y 34 nmolas/ml respectivamente al orden de las figuras, dichos cambios en cada caso representan desviaciones máximas del valor promedio del 25, 11 y 8% respectivamente.

El comportamiento de la concentración de taurina contrasta con la de los otros aminoácidos evaluados, en los que se observan cambios similares entre sí, con una tendencia a ser opuestos con los de la taurina. Esto fué más claro en la serie graficada en la Fig. 5 entre las concentraciones de taurina y ác.glutámico.

Tomando en cuenta las colectas a lo largo de un día los resultados se muestran en dos grupos:

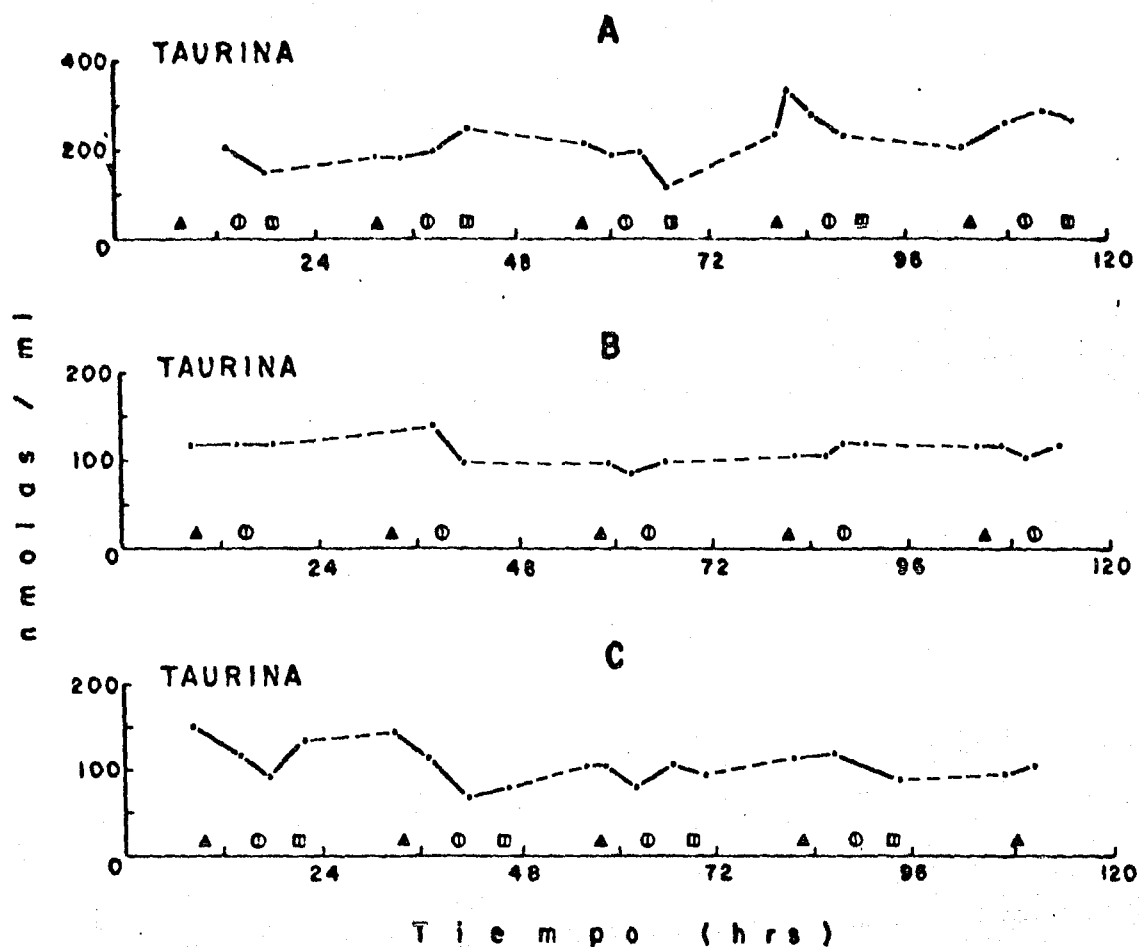


Fig. 4.- Concentraciones de taurina en la leche materna de tres distintas, mujeres lactantes colectadas durante 5 días consecutivos. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. Las líneas punteadas son interpolaciones entre los días examinados. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica. Los símbolos sobre las abscisas representan el momento de ingesta de alimentos por parte de la mujer lactante; Δ : desayuno; \bigcirc : comida; \square : cena.

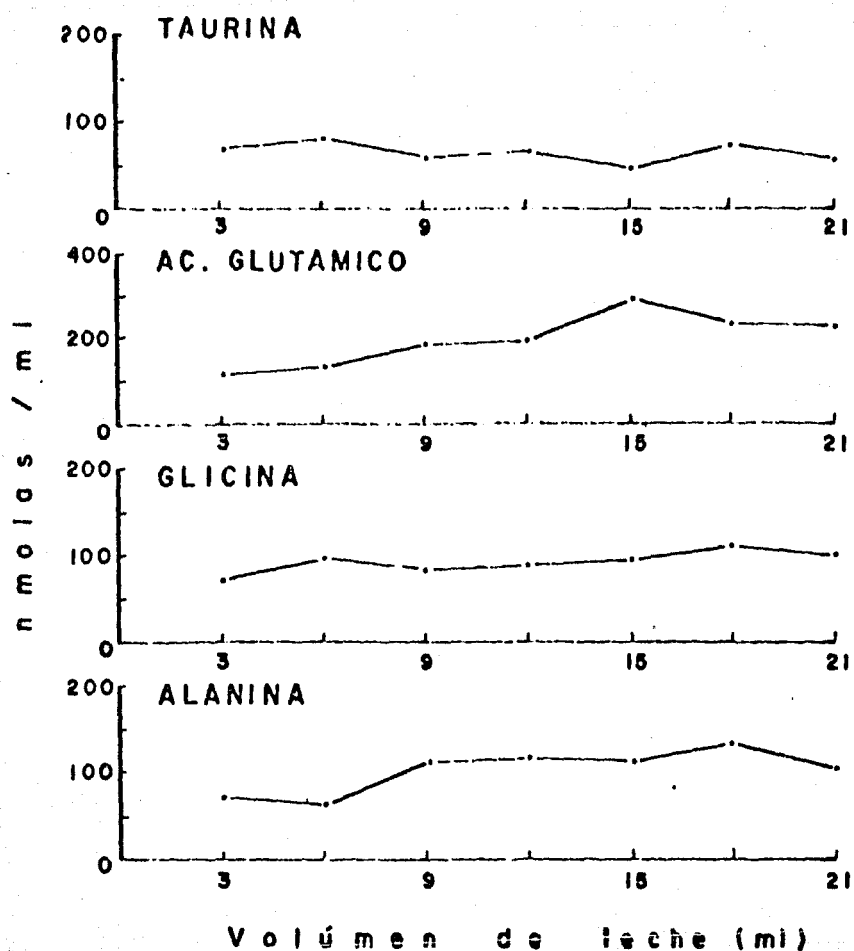


Fig. 5.- Concentración de taurina, ác. glutámico, glicina y alanina en la leche materna a lo largo del vaciado de un seno. Las muestras se obtuvieron a las 12:30 AM, colectándose los primeros 21 ml en fracciones consecutivas de 3 ml cada una. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatógrafo de alta resolución (HPLC).

Edad de la madre: 29 años.

Edad del lactante: 2 meses 25 días.

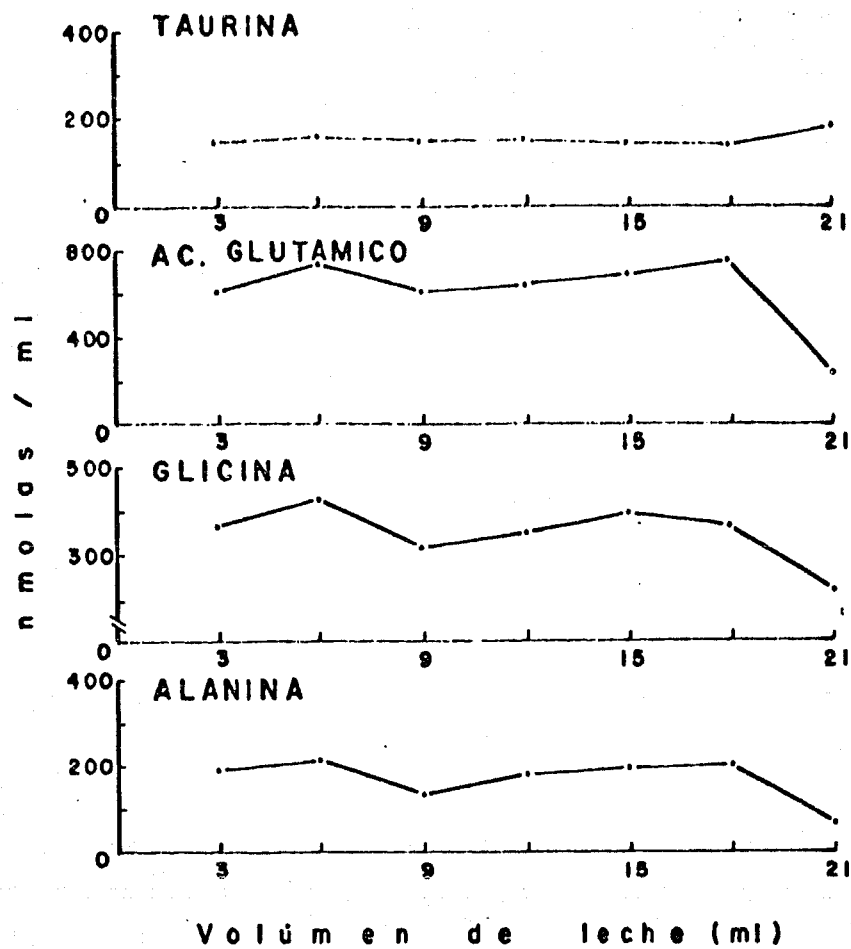


Fig. 6.- Concentración de taurina, ác. glutámico, glicina y alanina en la leche materna a lo largo del vaciado de un seno. Las muestras se obtuvieron a las 12:30 AM, colectándose los primeros 21 ml en fracciones consecutivas de 3 ml cada una. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografía de alta resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 24 años.
 Edad del lactante: 5 meses 19 días.

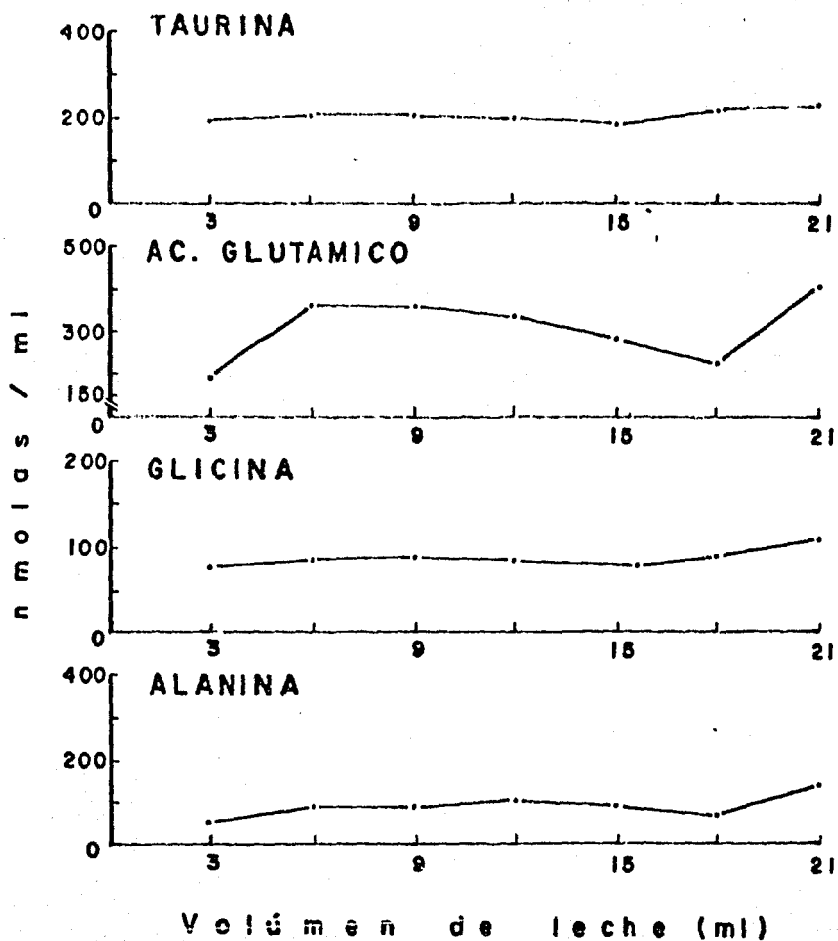


Fig. 7.- Concentración de taurina, ác. glutámico, glicina y alanina en la leche materna a lo largo del vaciado de un seno. Las muestras se obtuvieron a las 12:30 AM, colectándose los primeros 21 ml en fracciones consecutivas de 3 ml cada una. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografía de alta resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 22 años.
 Edad del lactante: 2 meses.

Grupo 1.- Edad del Lactante 1-3 meses

Figs. 8, 9, 10, 11, 12 y 13.

Grupo 2.- Edad del Lactante 4-6 meses

Figs. 14, 15, 16, 17, 18, 19 y 20.

En ambos grupos se nota que las concentraciones de taurina no se mantienen constantes a lo largo de la colecta, sino que oscilan de una manera irregular al comparar las series entre sí. La gama de oscilaciones o tendencias, pasa incluso por el valor cero, es decir, casos como los representados en las figuras 9 y 15, en donde la concentración de taurina se mantiene relativamente constante.

El rango de valores alrededor de los cuales se distribuye cada serie es notablemente amplio, aparte de las oscilaciones que cada una presenta. Dichos valores de concentración se distribuyen entre los 80 y 500 nmolas por ml de leche. Al organizarse los valores promedio, en función de la edad del lactante (1 a 3 meses y 4 a 6 meses), se observa una tendencia a la reducción en el contenido de taurina en la leche en el período más avanzado de la lactancia, con respecto a los primeros meses postparto, sin embargo las diferencias no son estadísticamente significativas (Tabla IX).

Esos mismos datos al tabularse de acuerdo a la edad de la madre (mayor y menor de 25 años), no muestran tampoco diferencias significativas. Más aún, los valores promedios son muy similares a pesar de la amplia dispersión de los datos (Tabla IX).

Finalmente se incluyó una colecta diurna, fijando las horas de toma de muestras, independientemente de que el lactante se alimentara o no, con el fin de poder hacer comparaciones con los resultados de Clark y col. (1987) (ver discusión). Los resultados se muestran en la fig. 21. En esta serie, se observan oscilaciones análogas a las obtenidas por el método de colecta seguido rutinariamente en este trabajo.

En algunas series, además de la taurina, se cuantificó el contenido de otros aminoácidos, de manera similar a las muestras obtenidas de un seno.

El ácido glutámico fué de manera consistente el componente mayoritario en todas las muestras analizadas, mientras que la glicina y la alanina se mantienen por debajo de los niveles de taurina. Todos los aminoácidos presentan oscilaciones en el transcurso del día; aunque sin evidenciar un patrón cíclico o regular. De manera análoga a lo observado en dos series de un seno, en estas colectas de 24 hrs el ác. glutámico oscila de manera antagónica con la taurina, formando entre sí imágenes especulares al graficarse conjuntamente. Este fenómeno no fué totalmente claro en todas las series analizadas.

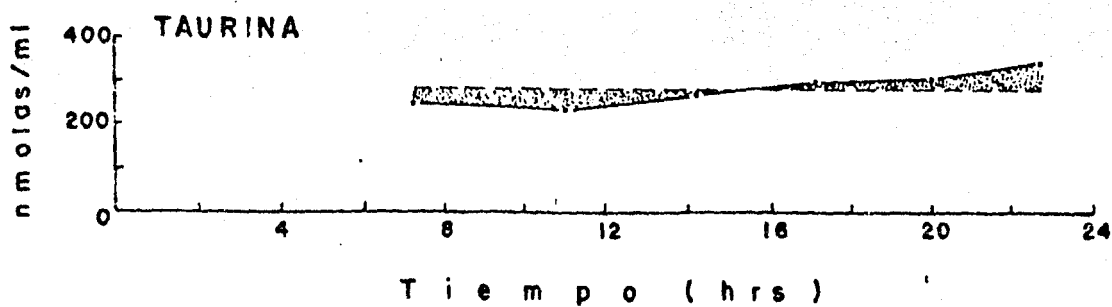


Fig. 8.- Concentraciones de taurina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica.

Edad de la madre: 22 años.

Edad del lactante: 1 mes 16 días.

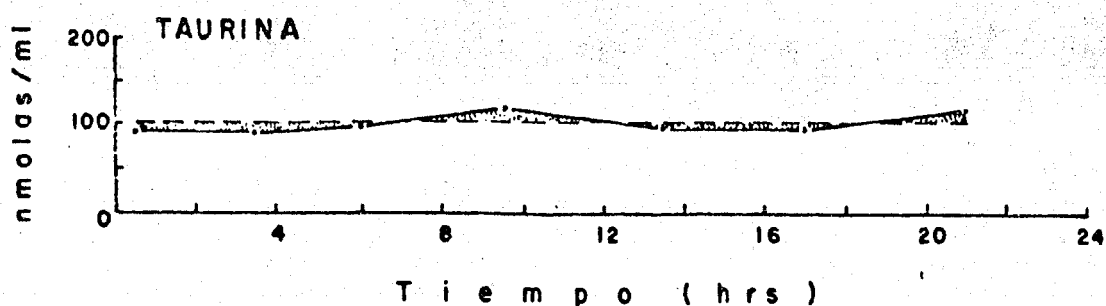


Fig. 9.- Concentraciones de taurina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica.

Edad de la madre: 30 años.

Edad del lactante: 1 mes 15 días.

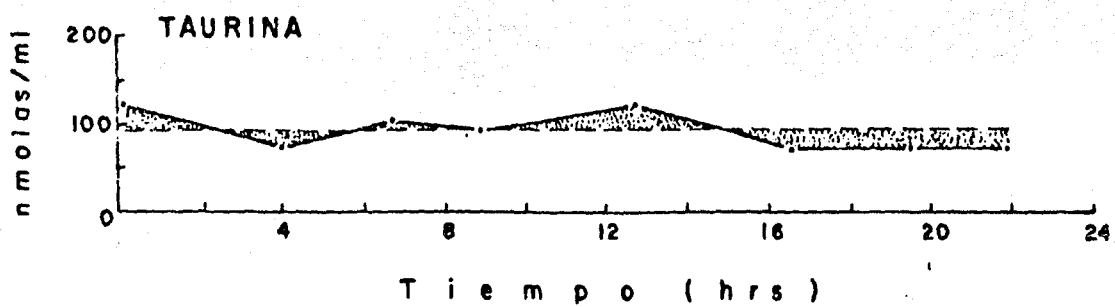


Fig. 10.- Concentraciones de taurina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica.

Edad de la madre: 29 años.

Edad del lactante: 1 mes 10 días.

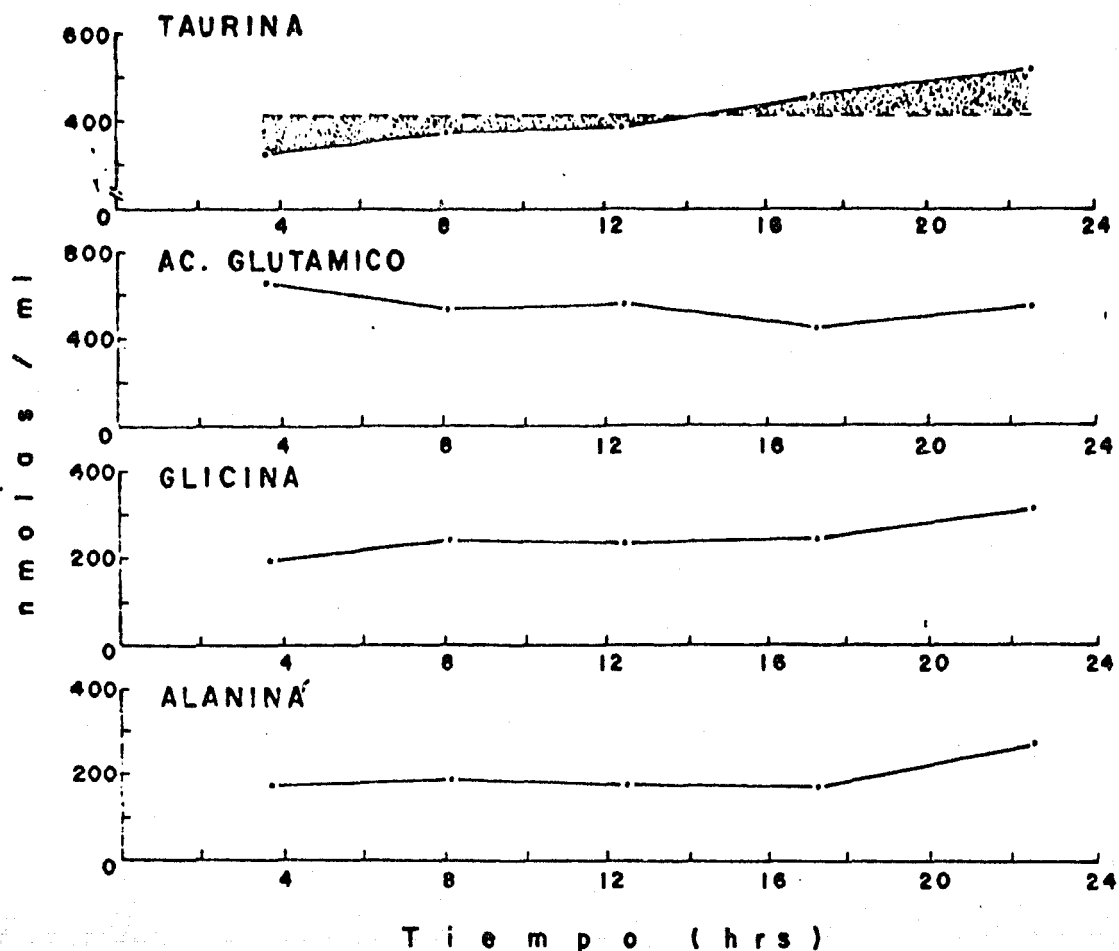


Fig. 11.- Concentraciones de taurina, ác. glutámico, glicina, y alanina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido del aminoácido correspondiente en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografía de alta resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 34 años.
 Edad del lactante: 2 meses 18 días.

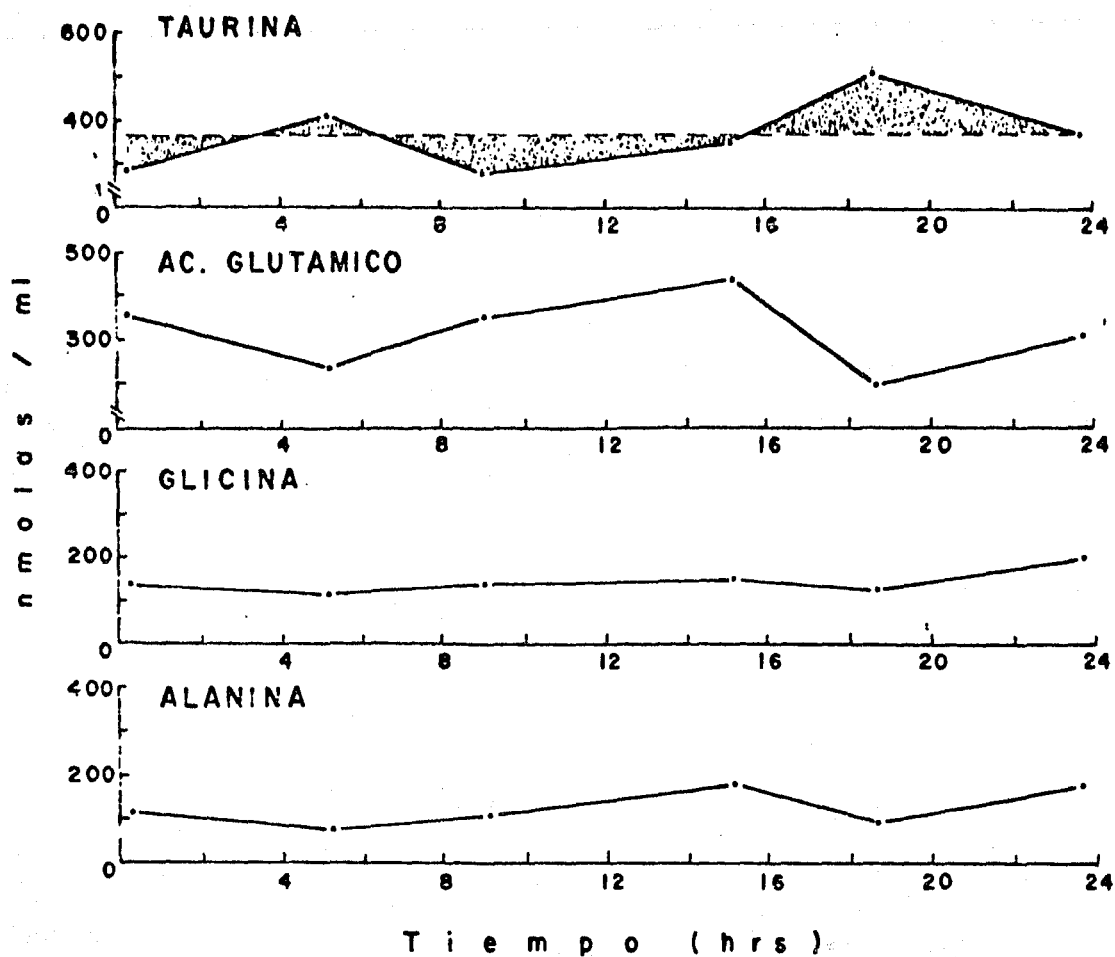


Fig. 12.- Concentraciones de taurina, ác. glutámico, glicina, y alanina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido del aminoácido correspondiente en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografó de alta resolución (HPLC). Edad de la madre: 22 años. Edad del lactante: 2 meses.

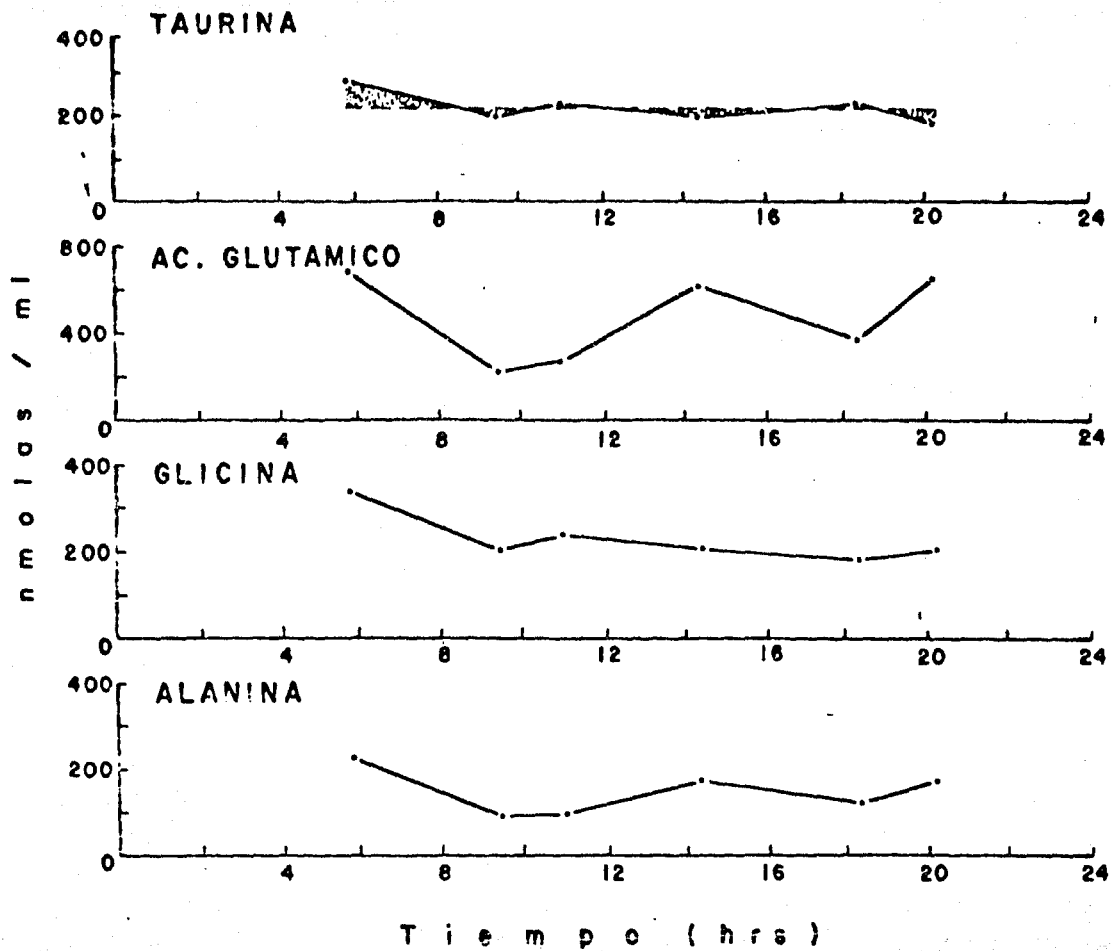


Fig. 13.- Concentraciones de taurina, ác. glutámico, glicina, y alanina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido del aminoácido correspondiente en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografó de alta resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 21 años.
 Edad del lactante: 1 mes 8 días.

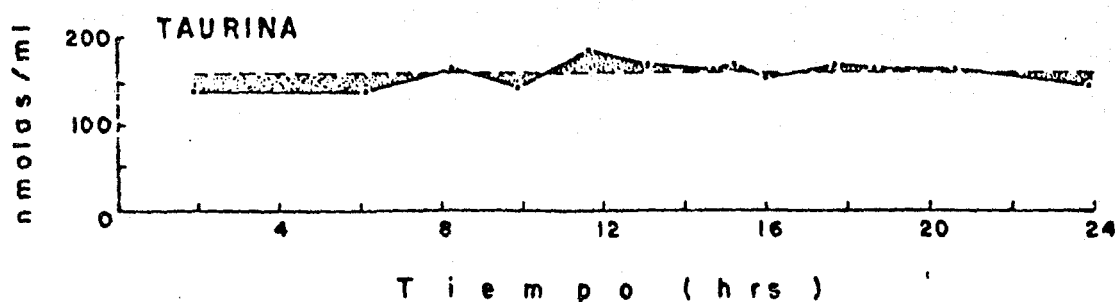


Fig. 14.- Concentraciones de taurina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica.

Edad de la madre: 16 años.

Edad del lactante: 6 meses 22 días.

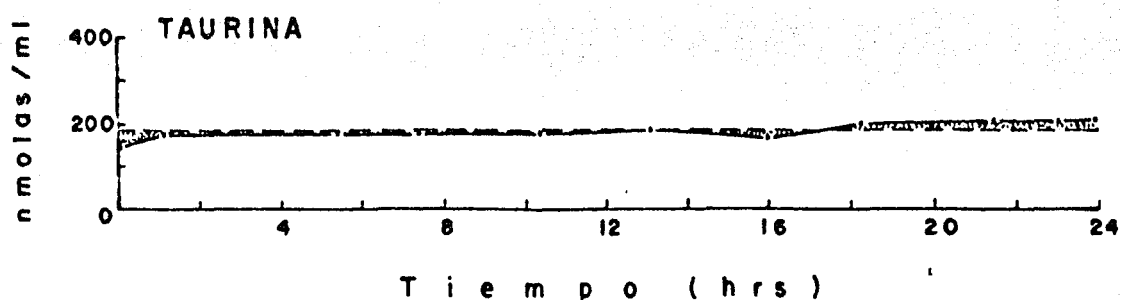


Fig. 15.- Concentraciones de taurina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica.
 Edad de la madre: 30 años.
 Edad del lactante: 5 meses 12 días.

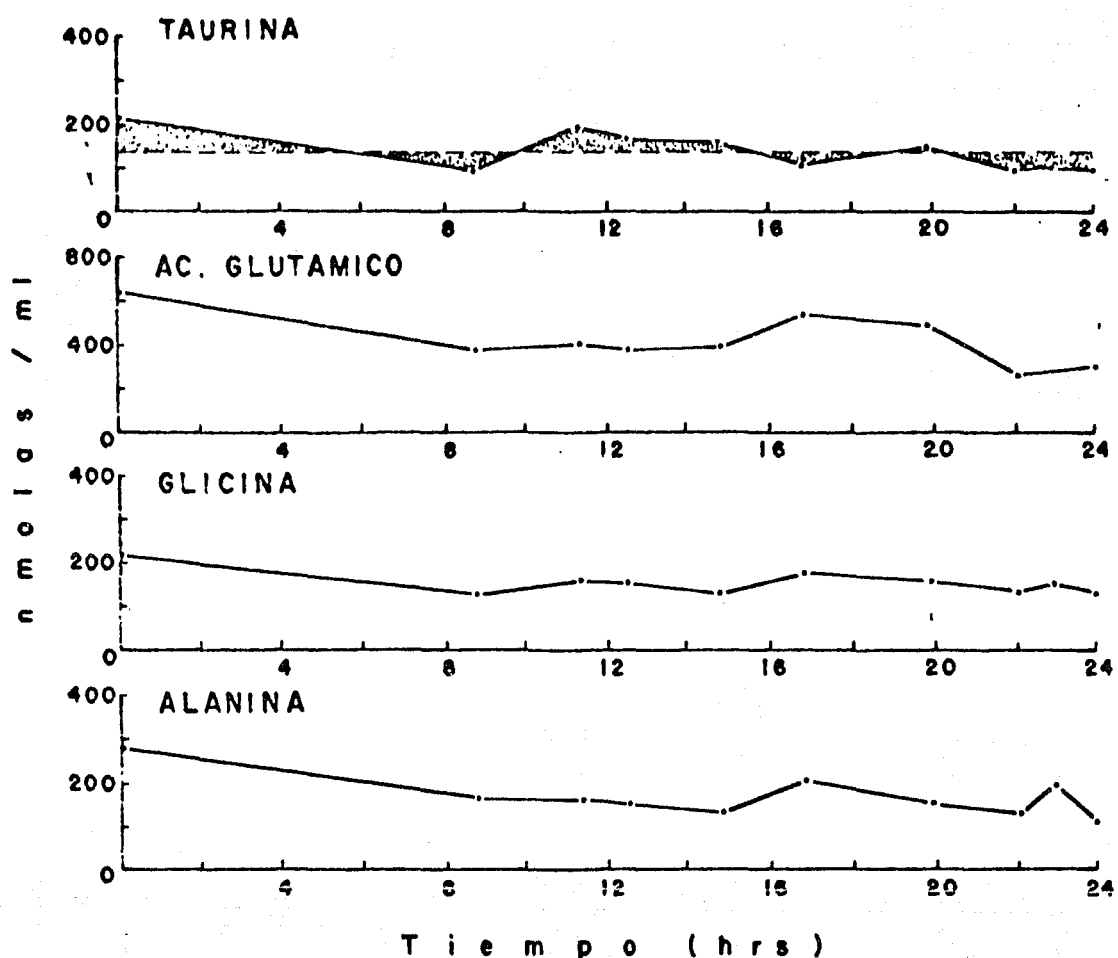


Fig. 16.- Concentraciones de taurina, ác. glutámico, glicina, y alanina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido del aminoácido correspondiente en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatográfico de alta resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 24 años.
 Edad del lactante: 5 meses 13 días.

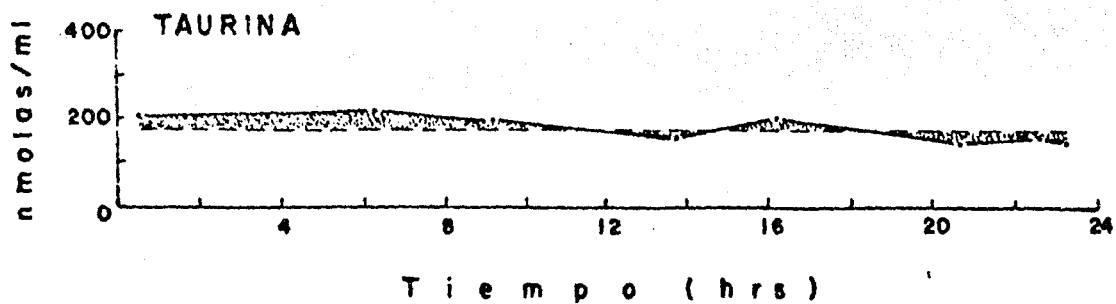


Fig. 17.- Concentraciones de taurina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica.

Edad de la madre: 27 años.

Edad del lactante: 5 meses 1 día.

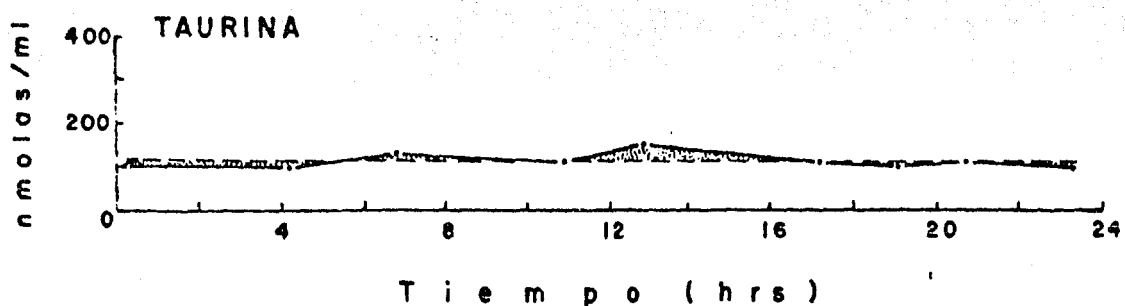


Fig. 18.- Concentraciones de taurina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido de taurina en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante una reacción fluorométrica.

Edad de la madre: 30 años.
Edad del lactante: 5 meses.

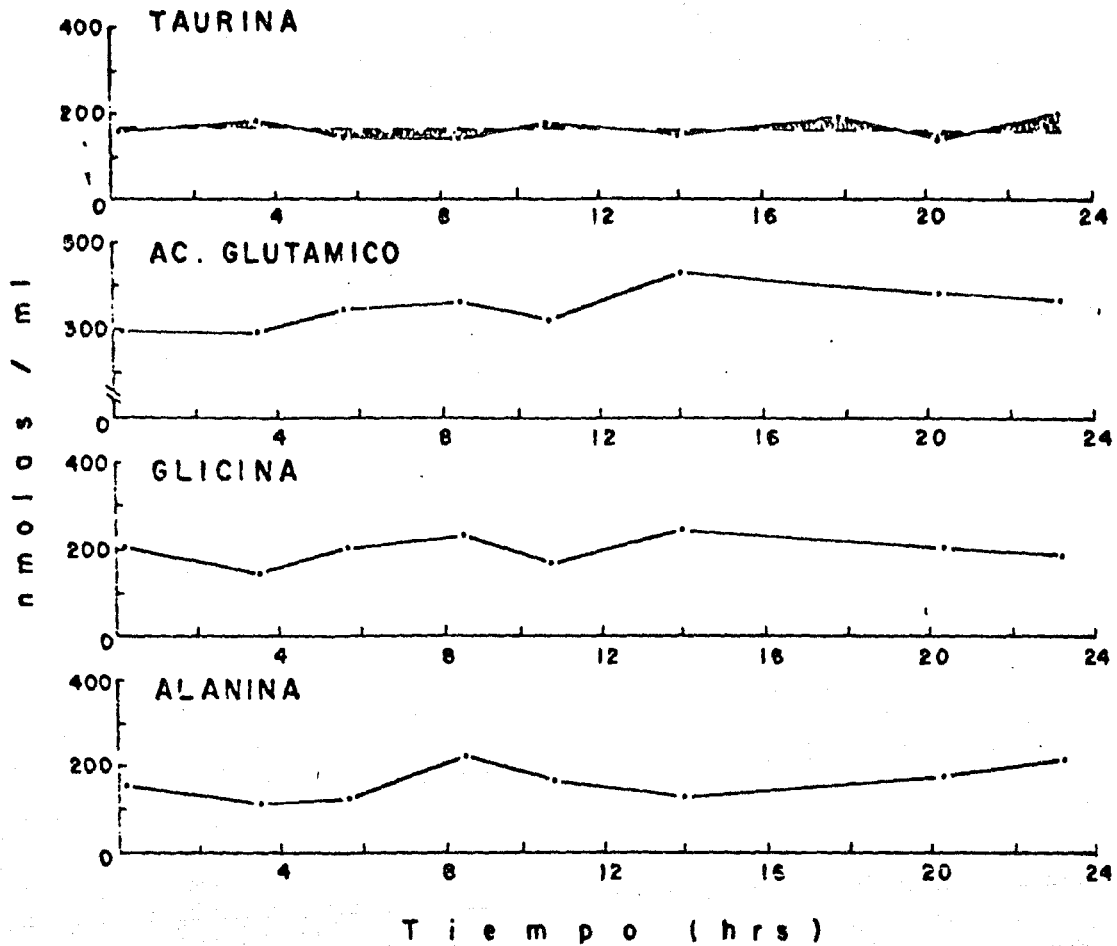


Fig. 19.- Concentraciones de taurina, ác. glutámico, glicina, y alanina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido del aminoácido correspondiente en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografía de alta resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 29 años.
 Edad del lactante: 5 meses.

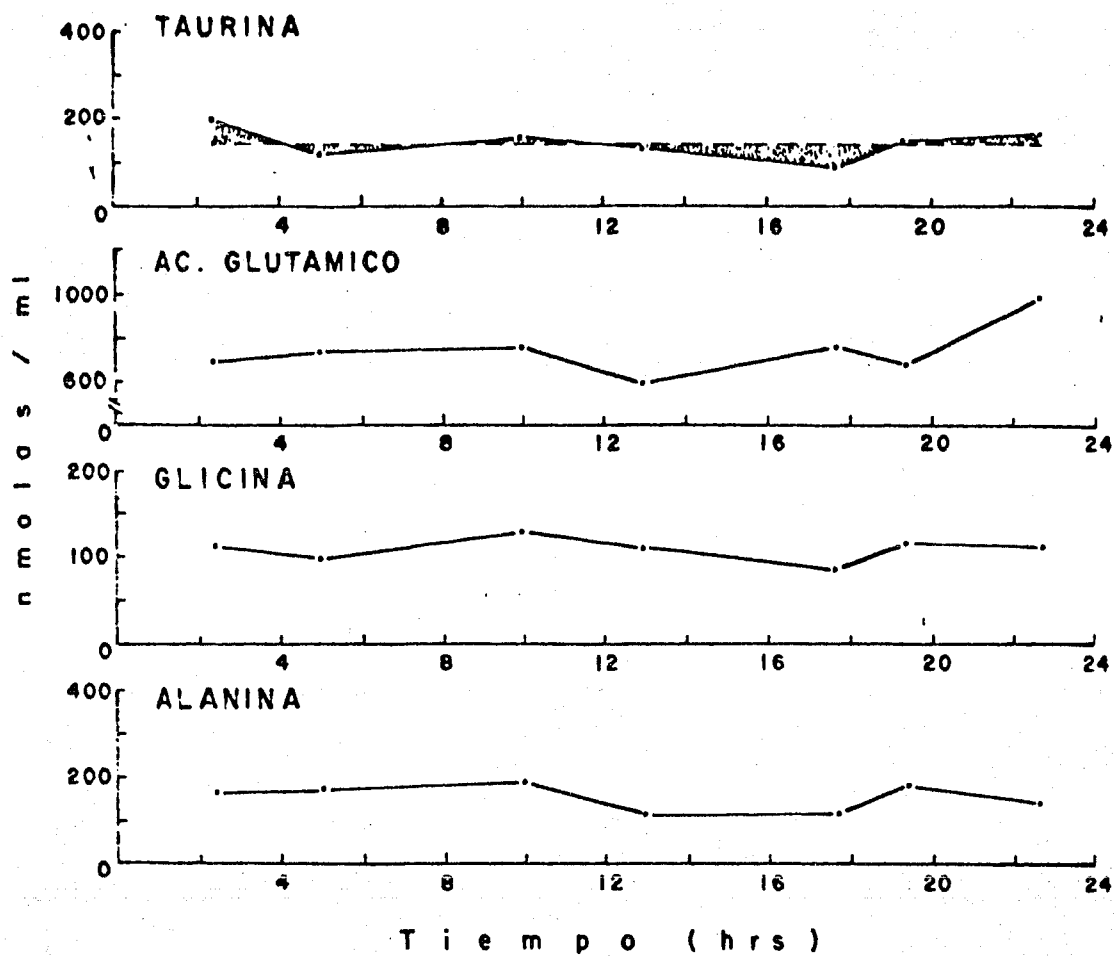


Fig. 20.- Concentraciones de taurina, ác. glutámico, glicina, y alanina en la leche de una mujer lactante, durante el transcurso de un día. Cada punto representa el contenido del aminoácido correspondiente en los primeros 3 ml secretados en cada sesión de amamantamiento. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografó de altà resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 24 años.
 Edad del lactante: 5 meses.

Tabla IX. Concentración de Taurina en Función de la Edad de la Madre y el Lactante.

	Edad del Lactante (meses)		Edad de la Madre (años)	
	1 - 3	4 - 6	<25	>25
TAURINA	251.51± 50.5	176.93± 22.2	209.77± 39.3	198.47± 39.7
(nmolas/ml)				
$\bar{x} \pm es$	n = 6	n = 8	n = 6	n = 8

Los valores de concentración de taurina representan el promedio \pm el error estandar del número de datos indicado en cada caso.

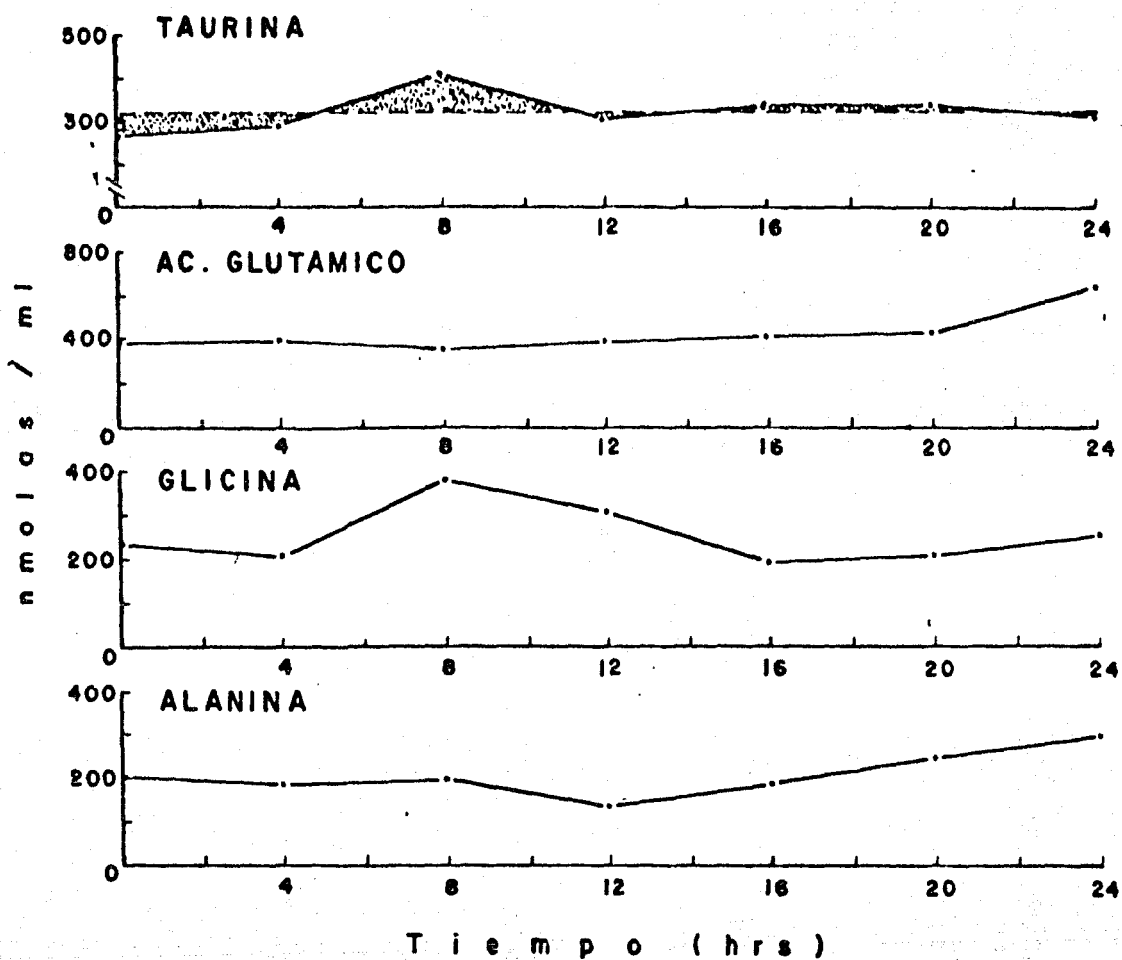


Fig. 21.- Concentración de taurina, ác. glutámico, glicina y alanina en muestras de leche maternas, colectadas cada 4 hrs, a lo largo de un día. Cada punto representa el contenido del aminoácido correspondiente en muestras de 3 ml de leche, colectadas independientemente del momento de alimentación del lactante. La línea discontinua representa la media aritmética. Las muestras fueron cuantificadas mediante un cromatografía de alta resolución (HPLC).
 Edad de la madre: 26 años.
 Edad del lactante: 5 meses.

DISCUSION.

Como se mencionó en la introducción los organismos animales cubren sus requerimientos de taurina a través de dos vías: por la biosíntesis enzimática a partir de precursores endógenos y a través de la ingesta de alimentos que la contienen.

Entre éstos dos aportes existe un estricto control homeostático que involucra la modulación de las tasas de síntesis y excreción del compuesto de taurina. Esto da como resultado una gran estabilidad a sus pozas tisulares (Hope, 1957; Sturman, 1973).

En el hombre sin embargo, la capacidad de biosíntesis de taurina, aunque existente, es limitada y al parecer insuficiente para cubrir la demanda de sus tejidos. El hígado, por ejemplo que en muchos organismos es donde se localiza la más alta actividad biosintética y que funge como fuente principal del aminoácido para otros tejidos, en el hombre muestra tasas de biosíntesis muy bajas, estimadas por cuantificación de la actividad de la enzima limitante de la vía, la DACS (Jacobsen y Smith, 1968).

Esta circunstancia plantea para el hombre el requerimiento de un aporte exógeno de taurina necesario para el mantenimiento de pozas tisulares estables.

Si se considera, por una parte, que durante los meses de lactancia y en los primeros meses de vida, el infante es alimentado únicamente con leche materna, y por otra, que algunos tejidos como el cerebro presentan en esos períodos concentraciones de taurina aún mas elevadas que en el estado adulto, (Sturman y Gaull, 1975) el contenido del aminoácido en la leche humana adquiere gran importancia. En efecto, al ser el único aporte exógeno que el lactante recibe, deben existir ciertos niveles mínimos que cubran los requerimientos del compuesto, durante el período en el que la leche constituye el único aporte de taurina y mientras es suplida por otros alimentos que la contengan. En este sentido, se han realizado estudios en los que al alimentar a recién nacidos ya sea con leche humana o con leches de fórmula prácticamente libres de taurina, se ha observado en éstos últimos una disminución, en los niveles plasmáticos de taurina y en el contenido presente en la orina (Räihä, *et al*, 1976; Gaull, *et al*, 1977). Cuando estas leches de fórmula son suplementadas con taurina en concentraciones similares a las encontradas en la leche humana, los niveles de taurina tanto del plasma como de la orina en los lactantes alimentados en estas condiciones, se mantienen en valores comparables con los de aquéllos que fueron alimentados con leche humana, concentrada o directamente de la madre (Järvenpää, *et al*, 1983; Rassin, *et al*, 1983).

Estos resultados indican que la dieta es una de las principales fuentes de taurina en el hombre y que en particular durante la lactancia dicha fuente la constituye la leche.

La leche de una gran variedad de especies hasta ahora estudiadas contiene niveles elevados de taurina, aunque existen importantes diferencias cuantitativas entre ellas. En cuanto a la leche humana, se han reportado muy distintos valores de concentración de taurina, señalando una posible variación interindividual (Rassin, **et al**, 1978; Lemons, **et al**, 1983; Harzer, **et al**, 1984).

Nuestros resultados confirman esta suposición, ya que se pudo observar que existe un amplio rango de variación interindividual entre las muestras analizadas (80 - 650 nmolas/ml). Entre este rango de valores se sitúan aquellos reportados por otros autores. En algunos de esos estudios sin embargo, se proporcionan promedios o datos únicos, sin hacer mención de la amplia variación entre distintos individuos.

Los resultados numéricos tan diversos reportados en estudios previos, podrían deberse al menos en parte a las oscilaciones que a lo largo del día hemos encontrado en todas las muestras analizadas, puesto que en la mayoría de ellos se colectaron muestras a lo largo de 24 horas y posteriormente fueron mezcladas y analizadas como un conjunto.

El establecimiento por el presente estudio de semejantes variaciones interindividuales dentro de una misma población: clase media urbana, con 3 comidas diarias, e ingesta de carne al menos 2 veces por semana, determina que para la realización de un estudio comparativo interpoblacional, el número de muestras analizadas debe ser muy alto y obliga a definir con precisión las características de los grupos a comparar, como por ejemplo la edad del lactante. En este sentido, Gaull y col. (1982) reportaron el contenido de taurina en la leche de 16 especies, incluyendo los valores determinados antes y después de los 5 días de edad de las crías, para 7 especies. En todos estos casos, la leche obtenida en los primeros días postparto presentó niveles mas altos de taurina que en días posteriores.

Entre las especies estudiadas destaca el caso de la leche de vaca, la que en los primeros días posteriores al nacimiento de su cría, contiene 30 veces más taurina que en los subsecuentes, cuando sus concentraciones se ven reducidas de 310 hasta 10 nmolas/ml; esto reviste gran importancia puesto que la leche de vaca constituye la materia prima de prácticamente todas las leches de fórmula, lo cual explica las bajas concentraciones del aminoácido determinadas en ellas (Gaull, 1982).

Los resultados obtenidos en el presente trabajo concuerdan con aquellos obtenidos por Clark y col. (1987), publicado en el curso de nuestra investigación, en el sentido de la amplia variación interindividual en cuanto al contenido de taurina en la leche; sin embargo difieren ostensiblemente con respecto a las oscilaciones en este parámetro a lo largo del día. Estos autores realizaron las colectas en 5 horas fijas, establecidas arbitrariamente a lo largo del día (6, 10, 14, 18 y 22 hrs) en 7 mujeres, encontrando primeramente un amplio intervalo de

variación interindividual (100 - 600 nmolas/ml) a pesar de lo pequeño de la muestra. Sin embargo los promedios obtenidos de éstas, arrojaron resultados con una variación máxima de 20 nmolas a lo largo del día, de donde se concluye que existe una relativa constancia en los niveles del aminoácido en el transcurso de las 18 horas analizadas. En nuestro caso se detectaron oscilaciones variables en las distintas series analizadas y aunque en algunas de ellas, éstas son mínimas y similares a las encontradas por Clark y col., en otras alcanzan diferencias de hasta un 38%.

En el presente estudio la hora de colecta de la muestra se determinó con base en la demanda del lactante. Esta diferencia con el protocolo de Clark y col. podría ser la razón de las diferencias encontradas, por lo cual se decidió reproducir el método de colecta con el fin de evaluarlo como fuente de las discrepancias mencionadas. En ese ensayo, como pudo observarse en los resultados (ver Fig. 21), las oscilaciones persisten encontrándose en esa serie en particular variaciones de 17 y 26% en los valores mínimo y máximo, con respecto al valor promedio, respectivamente.

La metodología analítica no parece ser tampoco el origen de las discrepancias entre los dos reportes. En ambos casos el método empleado fué la cromatografía líquida de alta resolución en su modalidad de fase reversa, y a pesar de que los sistemas de solventes guardan ciertas diferencias con los empleados en el estudio de Clark, la capacidad de resolución de nuestro método parece ser comparable.

Debe tomarse en cuenta que las oscilaciones en la concentración de taurina a lo largo del día son tanto ascendentes como descendentes en las diferentes series (ver Figs. 9 y 11), lo cual limita considerablemente la validéz de un valor promedio como los proporcionados por Clark y col. ya que las tendencias opuestas en los cambios se cancelarían, sugiriendo una estabilidad virtual en los niveles del aminoácido. Finalmente, cabe acotar que en el citado reporte no se muestran datos estadísticos de dispersión para cada valor de concentración en las horas estudiadas, sino que se tabulan únicamente los promedios, dificultando así la comparación.

Nuestros resultados señalan, por otra parte, que las oscilaciones en el contenido de taurina a lo largo del día no obedecen al momento de la ingesta de alimentos por parte de la madre, y que no son modificados en un sentido particular aún después de la segunda comida, que en los casos estudiados representaba la carga más fuerte de nutrientes.

La concentración de taurina es constante en el transcurso del vaciado de un seno (Figs. 5, 6 y 7), independientemente del volumen colectado, lo cual indica que el momento de la colecta de las muestras individuales (al inicio o durante el transcurso de la alimentación del lactante), no determina las oscilaciones diversas observadas. La constancia en la concentración del aminoácido, por otra parte, amplía el margen para la obtención de

muestras en las subsiguientes poblaciones a estudiar, a cualquier momento en el transcurso de una sesión de amamantamiento.

Con respecto a los restantes aminoácidos analizados en algunas de las colectas (ácido glutámico, glicina y alanina), se encontraron cantidades semejantes a las reportadas en estudios previos, destacando las elevadas concentraciones del ácido glutámico, componente mayoritario de la poza de aminoácidos libres en la leche, seguido por la taurina; ambos compuestos constituyen en conjunto entre el 55 y el 65% del total (Rassin, *et al*, 1978; Atkinson, *et al*, 1980).

El ácido glutámico, la glicina y la alanina varían también sus concentraciones a lo largo del día, observándose un cierto paralelismo entre los cambios en la concentración de los dos últimos; las oscilaciones en los niveles de ácido glutámico muestran un patrón variable que en algunas series es opuesto al que sigue la taurina.

No obstante el limitado número de series en el que se incluyó el análisis de otros aminoácidos además de la taurina, es posible hacer algunas aseveraciones sobre su comportamiento en el transcurso del día.

Es sabido que los aminoácidos ingresan a la glándula mamaria pasando del torrente sanguíneo al líquido extracelular para de ahí ser transportados al interior de las células secretoras por un proceso que implica un sistema de regulación.

La glicina y la alanina podrían ser transportados por sistemas análogos o incluso cotransportados. La taurina y el ácido glutámico serían transportados por sistemas diferentes pero estrechamente relacionados entre sí. Como componentes mayoritarios de la poza de aminoácidos, es posible que se requiera un balance entre sus concentraciones con el fin de contribuir al mantenimiento de la osmolaridad de la leche. Luego entonces, las oscilaciones observadas en la concentración de taurina a lo largo del día, estarían en función, al menos parcialmente, del contenido de ácido glutámico y viceversa.

Los trabajos del grupo de Rassin, Järvenpää, Gaull y col., han mostrado la importancia que tiene para el lactante un aporte adecuado de taurina para la óptima absorción de grasas, proceso en el que se conoce con razonable precisión la participación de este aminoácido. En otros tejidos, la función de la taurina aún es poco clara, sin embargo existe creciente evidencia experimental que vincula la deficiencia del aminoácido con alteraciones patológicas severas, algunas de ellas demostradas en estadios perinatales y, como ocurre en el caso de la retina, potencialmente irreversibles. Si como parecen indicar los estudios aquí mencionados, el hombre muestra una dependencia de taurina exógena, particularmente durante los primeros meses de vida, a lo largo de los cuales la leche constituye su único alimento, consideramos muy relevante evaluar los distintos factores que pudiesen incidir de manera negativa sobre el contenido de taurina en la leche humana. Las bases que sienta el

presente trabajo para el desarrollo de dicho estudio, consideramos justificada su realización.

Finalmente, cabe hacer mención de estudios muy recientes realizados en monos (Palackal, **et al**, 1986) en los que se evidencia la importancia de un aporte postnatal de taurina a través de la leche, durante los primeros meses de vida. El mono es uno de los modelos animales más cercanos al hombre desde el punto de vista filogenético, compartiendo con éste la limitada capacidad de biosíntesis de taurina y por tanto la dependencia de un aporte exógeno del aminoácido. Se ha establecido que en los monos Rhesus y muy probablemente en el hombre, la actividad mitótica neuronal de la corteza se completa durante estados embrionarios avanzados (Rackic, 1974), sin embargo la organización celular final, en cuanto a la formación de estratos celulares y el establecimiento de contactos sinápticos específicos, es decir, de circuitos neuronales como tales, son procesos cuyas fases culminantes ocurren en períodos postnatales. Con estas bases, Palackal y col. (1986) sometieron a un grupo de monos Rhesus desde el nacimiento y hasta el tercer mes de vida a una dieta láctea carente de taurina, mientras que un segundo grupo recibió la misma fórmula suplementada con el aminoácido a una concentración igual a la determinada en la leche de dicha especie. Al término del período experimental se realizó un estudio histológico comparativo en la corteza visual.

Los resultados muestran que mientras el grupo alimentado con la leche suplementada con taurina presentó una organización celular normal incluyendo la estratificación de los distintos tipos neuronales, los monos privados del aminoácido en la leche expresaron diversas anormalidades. Entre éstas, destacan una definición vaga, cuando no ausente, de los estratos neuronales; modificaciones en el grosor de algunas capas, indicando una distribución anormal de neuronas en cada estrato, así como arborizaciones dendríticas apicales reducidas, que no alcanzan su posición final ni se ramifican en una roseta terminal como normalmente ocurre, impidiendo en consecuencia el establecimiento de los circuitos neuronales o sustrato anatómico de los sistemas finales de integración de la información, en este caso, visual.

En este período de tratamiento de leche libre de taurina (3 meses) la retina ya presenta a nivel ultraestructural alteraciones a nivel de los fotorreceptores, viéndose primariamente afectados los conos que los bastones, sin embargo, la desestabilización celular está circunscrita a las zonas foveal y parafoveal y no se presenta aún la muerte celular. De estos datos se desprende que las alteraciones en la organización celular cortical no son consecuencia (Imaki, **et al**, 1987).

Es conocido que el flujo de información aferente hacia los centros corticales de la visión (y probablemente de otros) puede ser determinante para el establecimiento correcto de la circuitería neuronal en períodos críticos postnatales. En el caso de los estudios citados en la corteza visual, las alteraciones tempranas que ya aparecen en la retina en los mismos períodos

experimentales, no parecen justificar la profunda desorganización cortical observada, por lo que, sin descartar la influencia de una información retiniana deficiente, los resultados obtenidos en la corteza visual apuntan hacia un requerimiento exógeno de taurina durante el período postnatal temprano a través de la leche, para el establecimiento correcto de la circuitería neuronal. Podemos añadir que dado que las anormalidades registradas en la corteza visual parecen involucrar alteraciones sobre procesos generales del desarrollo neuronal como son: el desarrollo de arborizaciones dendríticas, el reconocimiento celular y establecimiento de sinápsis específicas, así como la migración celular, sería posible que alteraciones análogas ocurrieran en otras zonas que durante períodos postnatales tempranos se encuentren también en estadios críticos de su desarrollo.

Las implicaciones de estos hallazgos son en extremo relevantes, aún aunque estuviesen circunscritos a la corteza visual, pues no sólo señalan la demanda de taurina que para procesos tan claves como el establecimiento de circuitos neuronales el tejido nervioso presenta, sino que a la vez, enfatizan la importancia que desde el punto de vista nutricional representa un aporte adecuado de taurina durante la lactancia.

REFERENCIAS.

Agrawal, H.C., Davis, J.M. and Hinwiche, W.A. (1966a). Postnatal changes in free amino acid pool of rabbit brain. **Brain Res.** 3:374-480.

Agrawal, H.C., Davis, J.M. and Hinwiche, W.A. (1966b). Postnatal changes in free amino acid pool of rat brain. **J. Neurochem.** 13:607-615.

Andrews, S. and Schmidt, C.L.A. (1927). Titration curves of taurine and cysteic acid. **J. Biol. Chem.** 73:651-654.

Ansell, G.B. (1959). Amino acids, peptides and related nitrogenous compounds. **In: Data for Biochemical Research**, (edited by R.M.G. Dawson, D.C. Elliott, W.H. Elliott, and K.M. Jones). Oxford: Clarendon, pp.2-28.

Atkinson, S.A., Anderson, G.H., and Bryan, M.H., (1980). Human milk: comparison of the nitrogen composition in milk from mothers of premature and full-term infants. **Am. J. Clin. Nutr.** 33:811-815.

Awapara, J. (1976). The metabolism of taurine in the animal. **In: Taurine** (Huxtable R.J. and Barbeau A. eds.). Raven Press, New York, pp.1-19.

Barbeau, A. (1974). Zink, taurine and epilepsy. **Arch. Neurol.** 30:52-58.

Barbeau, A., Tsukada, Y. and Inoue, N. (1976). Neuropharmacologic and behavioral effects of taurine. **In: Taurine** (Huxtable R.J. and Barbeau A. eds.). Raven Press, New York, pp.253-266.

Barnes, D. and Altman, J. (1973a). Effects of different schedules of early undernutrition on the preweaning growth of the rat cerebellum. **Exp. Neurol.** 38:406-419.

Barnes, D. and Altman, J. (1973b). Effect of two levels of gestational-lactational undernutrition on the postweaning growth of the rat cerebellum. **Exp. Neurol.** 38:420-428.

Baskin, S.L. and Dagirmanjian, R. (1973). Possible involvement of taurine in the genesis of human dystrophy. **Nature Lond.** pp.245-464.

Benton, J.W., Moser, H.W., Dodge, P.R. and Carr, S. (1966). Modification of the schedule of myelination of the rat by nutritional deprivation. **Pediatrics.** 38:801-807.

Bergamini, L., Mutani, R., Delsedime, M. and Durelli, L. (1974). First clinic experience on the antiepileptic action of taurine. **Eur. Neurol.** 11:261-269.

Berson, E.L., Hayes, K.C., Rabin, A.R. and Schmidt, S.Y. (1976). Retinal degeneration in cats fed casein II. Supplementation with methionine, cysteine or taurine. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** 15:52-58.

Berson, E.L. (1982). Nutrition and retinal degenerations. **Retina,** 2:236-255.

Borromei, A., Sacquegna, T. and Coccagna, G. (1975). Use of taurine in continuous partial epilepsy. Observations of a case. **Phronesis.** 17:401-405.

Cavallini, D., De Marco, C., Mandovi, B. and Stirpe, F. (1954). The biological oxidation of hipotaurine. **Biochim. Biophys. Acta.** 15:301-303.

Chatagner, F. and Bergeret, P. (1952). Désulfuration et descarboxylation enzymatiques de l'acide L-cysteine-sulfonique: sa transformation quantitative en alanine et hipotaurine. **Biochim. Biophys. Acta.** 9:141-147.

Clark, R.M., Ross, S.A., Hill, D.W.H., and Ferris, A.M. (1987). Within-day variations of taurine and other nitrogen substances in human milk. **J. Dairy. Sci.** 70:776-780.

Close, R. (1960). Free amino acids of some fungi. **Nature.** 185:609.

Crabai, F., Sitzia, A. and Pepen, G. (1979). Taurine concentration in the neurohypophysis of different animal species. **J. Neurochem.** 23:1091-1092.

Cravioto, J. and Robles, B. (1965). Evolution of adaptative and motor behavior during rehabilitation from kwashiorkor. **Am. J. Orthopsychiatry**, 35:449-464.

Cravioto, J., DeLicardie, E. and Birch, H. (1966). Nutrition, growth and neurointegrative development: an experimental and ecological study. **Pediatrics** (Suppl.) 38: part II.

Curtis, D.R. and Tebécis, A.K. (1972). Bicuculline and thalamic inhibition. **Exp. Brain Res.** 16:210-218.

Curtis, D.R. and Johnston, G.A.R. (1974). Amino acid transmitters in mammalian nervous system. **Ergebn. Physiol.** 69:97-188.

Cutter, R.W.P. and Dudzinski, D.S. (1974). Regional changes in amino acid content in developing rat brain. **J. Neurochem** 23:1005-1009.

Dolara, P., Agrresti, A., Giotti, A. and Pasquini, G. (1973). Effect of taurine on calcium kinetics of guinea pig heart. **Eur. J. Pharmacol.** 24:352-358.

Ericson, L.E., and Carlson, B. (1954). Studies on the occurrence of amino acids, niacin, and pantothenic acid in marine algae. **Arkiv Kemi** 6:511-522.

Florin, M. and Schoffeniels, E. (1965). Euryalinity and the concept of physiological radiation. In: **Studies in comparative biochemistry**. (Munday K.A. editor). Pergamon Press, Lond. pp.6-40.

Fowden, L. (1951). Amino acids of certain algae. **Nature** 167:1030.

Fuerst, R., and Wagner, R.P. (1957). An analysis of the free intracellular amino acids of certain strains of Neurospora. **Arch. Biochem. Biophys.** 70:311.

Gaitone, M. K. and Short, R. A. (1971). Quantitative determination of taurine by an o-phthalaldehyde-urea reaction. **Analyst.** 96:274-280.

Gaull,G.E., Rassin,D.K., R ih ,N.C.R. and Heinonen,K. (1977). Milk protein quantity and quality in low-birth-weight infants.III. Effects on sulfur amino acids in plasma and urine. **J. Pediatr.** 90:348-355.

Gaull,G.E.(1982), Taurine nutrition in man. In: **Taurine in Nutrition and Neurology** (Huxtable,R.J. y Pasantes-Morales,H. Eds.) Advances in experimental medicine and biology Vol.139 Plenum Press, New York pp.89-95

Garvin,J.E.(1960). A new method for the determination of taurine in tissues. **Arch. Biochem. Biophys.** 91:219-225.

Geddes,J.W. and Wood,J.D.(1984). Changes in the aminoacid content of nerve endings (sinaptosomes) induced by drugs that alter the metabolism of glutamate and γ -aminobutyric acid. **J. Neurochem.** 42:16-23.

Geggel,H.S., Ament,M.E., Heckenlively,J.R., Kopple,J.D.(1982). Evidence that taurine is an essential amino acid in children receiving total parental nutrition. **Clin. Res.** 30:486A.

Gruener,R. and Bryant,H.J.(1975). Excitability modulation by taurine: actions on axon membrane permeabilities. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 194:514-521.

Harry,S., Geggel,M.D., Marvin,E.Ament,M.D., John,R. Heckenlively,M.D., Deidre,A.Martin,B.S., and Joel,D.Kopple,M.D.(1985). Nutritional requirement for taurine in patients receiving long-term parenteral nutrition. **J. Medicine** Jan 17, New England pp.142-146.

Harzer,G., Franzke,V., and Birdels,J.G.(1984). Human milk, nonprotein nitrogen components: changing patterns of free amino acids and urea in the course of early lactation. **Am. J. Clin. Nutr.** 40:303.

Hatai,S.(1907). Effects of partial starvation followed by a return to normal diet on the growth of the body and central nervous system of albino rats. **Am. J. Physiol.** 18:309.

Hayes,K.C., Carey,R.E. and Shmidt,S.Y. (1975a). Retinal degeneration associated with taurine deficiency in the cat. **Science.** 188:949-951.

Hayes, K.C., Rabin, A.R. and Berson, E.L. (1975b). An ultrastructural study of nutritionally induced and reversed retinal degeneration in cats. **Am. J. Pathol.** 78:505-524.

Hayes, K.C. and Sturman, J.A. (1981). Taurine in metabolism. **Ann Rev. Nutr.** 1:401-425.

Hayes, K.C., and Sturman, J.A. (1982). Taurine deficiency: A rationale for taurine depletion. **In: Taurine in Nutrition and Neurology.** (Huxtable, R.J., and Pasantes-Morales, H. Eds.) *Advances in Experimental Medicine and Biology* Vol. 139, Plenum Press, New York, pp.79-87.

Hope, D.B. (1957). The persistence of taurine in the brains of pyridoxine-deficient rats. **J. Neurochem.** 1:364-369.

Huxtable, R. and Bressler, R. (1974). Elevation of taurine in human congestive heart failure. **Life Sci.** 14:1353-1359.

Huxtable, R. (1976). Metabolism and function of taurine in the heart. **In: Taurine** (Huxtable R.J. and Barbeau A. eds.). Raven Press, New York, pp.99-120.

Huxtable, R. (1982). Physicochemical properties of taurine. **In: Taurine in nutrition and neurology, Vol. 139.** (Huxtable R. and Pasantes-Morales H. eds.). Plenum Press, New York and London, pp.1-4.

Huxtable, R.J., and Lippincott, S.E. (1983). Relative contribution of the mother, the nurse and endogenous synthesis to the taurine content of the newborn and suckling rat. **Ann. Nutr. Metab.** 27:107.

Huxtable, R.J. and Sebring, L.A. (1983). Cardiovascular actions of taurine. **In: Sulfur Amino Acids: Biochemical and Clinical Aspects.** (Kuriyama, K., Huxtable, R.J., and Iwata, H., Eds.) *Progress in Clinical and Biological Research* Vol. 125, Alan R. Liss, Inc, New York. pp.5-37.

Imaki, H., Moretz, R., Wisniewski, H., Neuringer, M. and Sturman, J. (1987). Retinal degeneration in 3-month-old Rhesus monkey infants fed a taurine-free human infant formula. **J. Neurosci. Res.** 18:602-614.

Jacobsen, J.G., and Smith, L.H. (1968). Biochemistry and Physiology of taurine and taurine derivatives. **Physiol. Rev.** 48:424-511.

Järvenpää, A-L., Rassin, D.K., Raiha, N.C.R. and Gaull, G.E. (1982). Milk protein quantity and quality in the term infant II. Effects on acidic and neutral amino acids. **Pediatrics** 70:221-230.

Järvenpää, A-L., Rähä, N.C.R., Rassin, D.K. and Gaull, G.E. (1983). Feeding the low-birth-weight infant. I. Taurine and cholesterol supplementation of formula does not affect overall growth and metabolism. **Pediatrics** 71:171-178.

Kelly, A.P., and Weed, L.L. (1965). Taurine as a constituent of a bacterial cell wall. **J. Biol. Chem.** 240:2519-2523.

Kocsis, J.J., Kostos, U.J. and Baskin, S.I. (1976). Taurine levels in the heart tissues of various species. In: **Taurine** (Huxtable R.J. and Barbeau A. eds.). Raven Press, New York, pp.145-153.

Lähdesmäki, P. (1986). Determination of taurine and other acidic amino acids in plants. (Pergamon Journals Ltd. printed in Great Britain) **Phytochemistry Vol. 25**, No. 10:2409-2411.

Lake, N. (1982). Is taurine an essential amino acid? **Retina**, 2:261-263.

Lemons, J., Reyman, D., and Moye, L. (1983). Amino acid composition of preterm and term breast milk during early lactation. **Early Hum. Dev.** 8:323.

Lindberg, B. (1955). Methylated taurines and choline sulphate in red algae. **Acta Chem. Scand.** 9:1323-1326.

Marnela, K.-M., Timonen, M., and Lähdesmäki, P., (1984). Mass spectrometric analyses of brain synaptic peptides containing taurine, **J. Neurochem.**, 43:1650-1653.

Marquardt, P., and Vogg, G. (1952). Pharmakologische und chemische Untersuchungen über Wirkstoffe in Bienenpollen. **Arzneimittel. Forsch. Z.**:267-271.

Martin, N.G. and Patrick, H. (1961). The effect of taurine on the sulphate-S³⁵ retention by chicks. **Poultry Sci.** 40:267-268.

Oja, S.S. and Kontro, P. (1983). Taurine. In: **Handbook of Neurochemistry, Vol. 3.** (Lajtha, A. ed.). Plenum Press, New York, pp.501-533.

Ordy, J.M. (1971). Postnatal protein-calorie deficiency effects on learning and neurochemistry of infant Rhesus monkeys. **Trans. Am. Soc. Neurochem.** 2:99.

Orr, H.T., Cohen, A.L. and Lowry, O.H. (1976). The distribution of taurine in the vertebrate retina. **J. Neurochem.** 26:609-611.

Palackal, T., Sturman, J., Moretz, R., Wisniewski, H. and Neuringer, M. (1986). Primate visual cortex development: Effect of dietary taurine. (Resumen). **Trans. Am. Soc. Neurochem.** 17:306.

Paoletti, R. and Galli, C. (1972). Effects of essential fatty acid deficiency on the central nervous system in the growing rat. In: **Lipids, malnutrition and the developing brain.** (CIBA Foundation Symposium) pp.121-140.

Pasantes-Morales, H., Kleithi, J., Urban, P.F. and Mandel, P. (1972). Free amino acids in chicken and rat retina. **Brain Res.** 41:494-497.

Pasantes-Morales, H., Bonaventure, N., Wioland, N. and Mandel, P. (1973). Effect of intravitreal injections of taurine and GABA on chicken ERG. **Int. J. Neurosci.** 5:235-241.

Pasantes-Morales, H. and Gamboa, A. (1980). Effect of taurine on ⁴⁵Ca accumulation in rat brain synaptosomes. **J. Neurochem.** 34:244-246.

Pasantes-Morales, H., Arzate, M.E. and Cruz, C. (1982). The role of taurine in nervous tissue: its effects on ionic fluxes. **Adv. Exp. Med. Biol.** 139:273-292.

Pasantes-Morales, H., Quesada, O. and Huxtable, R.J. (1983). Effects of the taurine transport antagonists guanidinoethane sulfonate and alanine on the morphology of rat retina. **J. Neurosci. Res.** 9:135-143.

Pasantes-Morales,H.(1986). Current concepts on the role of taurine in the retina. **In: Progress in retinal research, Vol.5.** (Osborne,N. and Chader,J. eds.). Pergamon Press, Oxford, New York, pp.207-229.

Patel,A.J., Balasz,R. and Johnson,A.L.(1973). Effect of undernutrition on cell formation in the rat brain. **J. Neurochem.** 20:1151-1165.

Quesada,O., Huxtable,R.J. and Pasantes-Morales,H. (1984). Effect of guanidinoethane sulfonate on taurine uptake by rat retina. **J. Neurosci. Res.** 11:179-186.

Rackic,P.(1974). Neurons in Rhesus monkey visual cortex: sistematic relation between time of origin and eventual disposition. **Science.** 183:425-427.

Räihä,N.C.R., Heinonen,K., Rassin,D.K. and Gaull,G.E.(1976). Milk protein quantity and quality in low-birth-weight infants:I. Metabolic responses and effects on growth. **Pediatr.** 57:659-674.

Rassin,D.K., Gaull,G.E., Heinonen,K., and Räihä,N.C.R.(1977). Milk protein quantity and quality in low-birth-weight infantes II. Effects on selected essential and nonessential amino acids in plasma and urine. **Pediatr.** 59:407.

Rassin,D.K., Sturman,J.A. and Gaull,G.E.(1978). Taurine and other free amino acids in milk of man and other mammals. **Early Hum. Dev.** 2:1-13.

Rassin,D.K., Gaull,G.E., Järvenpää,A-L., and Räihä,N.C.R.(1983). Feeding the low-birth-weight infant.II. Effects of taurine and cholesterol supplementation on amino acids and cholesterol. **Pediatr.** 71:179-186.

Read,W.O. and Welty,J.D.(1963). Effect of taurine on epinephrine and digoxin-induced irregularities of dog heart. **J. Pharmacol. Exp. Therap.** 139:283-289.

Schmidt, S.Y., Berson,E.L., Watson,G. and Huang,C. (1977). Retinal degeneration in cats fed casein: III. Taurine deficiency and ERG amplitudes. **Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.** 16:673-678.

Showmaker, W.J. Coyle, J.T. Jr and Bloom, F.E. (1974). Perinatal undernutrition: effect on neurotransmitters, transmitter synthetic enzymes, and the number of synaptic connections. **Trans. Am. Soc. Neurochem.** 4-100.

Spaeth, D.G. and Schneider, D.L. (1974). Turnover of taurine in rat tissues. **J. Nutr.** 104:179-186.

Spaeth, D.G. and Schneider, D.L. (1976). Taurine metabolisms. Effects of diet and bile salt metabolism. **In: Taurine** (Huxtable, R. and Barbeau, A. eds.). Raven Press, New York, pp.35-44.

Striano, S., Grosso, A. Perretti, A. and Buscaino, G.A. (1974). Primi risultati sugli effetti della taurina nella epilessia umana. **Act. Neurol.** 29:537-542.

Sturman, J.A. (1973). Taurine pool sizes in the rat: Effect of vitamin B-6 deficiency and high taurine diet. **J. Nutr.** 103:1566-1580.

Sturman, J.A., and Gaul, G.E. (1975). Taurine in the brain and liver of the developing human and monkey. **J. Neurochem.** 25:831-835.

Sturman, J.A. and Kenneth, C. Hayes, (1980). The biology of taurine in nutrition and development. **In: Advances in Nutritional Research, Vol. 3** (Edit: Harold, H. Draper). Plenum Publishing Corporation. pp.231-299.

Sturman, J.A., Wen, G.Y., Wisniewski, H.M. and Neuringer, M.D. (1984). Retinal degeneration in primates raised on a synthetic human infant formula. **Int. J. Devel. Neurosci.** 2:121-126.

Sturman, J.A., Moretz, R.C., French, J.H. and Wisniewski, H.M. (1985a). Postnatal taurine deficiency in the kitten results in a persistence of the cerebellar external granule cell layer. Correction by taurine feeding. **J. Neurosci. Res.** 13:521-528.

Sturman, J.A., Moretz, R.C., French, J.H. and Wisniewski, H.M. (1985b). Taurine deficiency in the developing cat: persistence of the cerebellar external granule cell layer. **J. Neurosci. Res.** 13:405-416

Sumizu,K.(1962). Oxidation of hipotaurine in rat liver. **Biochem. Biophys. Acta** 63:210-212.

Takahashi,R. and Nakane,Y.(1978). Clinical trial of taurine in epilepsy. **In: Taurine and neurological disorders** (Huxtable,R. and Barbeau,A. eds.). Raven Press, New York, pp.375-386.

Tiedemann,F. and Gmelin,L.(1827). Einise neve bestandtheile der galle de ochsen. **Ann. Physik. Chem.** 9:326-337.

Van Gelder,N.M., Sherwin,A.L. and Rasmussen,T.(1972). Amino acid content of epileptogenic human brain: focal versus surrounding regions. **Brain Res.** 40:385-393.

Vislie,T.(1983). Cell volume regulation in fish heart ventricles with special reference to taurine. **Comp. Biochem. Physiol.** 76A:507-514.

Welty,J.D. and Read,W.U.(1964). Studies on some cardiac effects of taurine. **J. Pharmacol. Exp. Ther.** 144:110-115.

Wiener,S.G.(1972). Post-weaning rehabilitation of catecholamine levels in the rat brain and heart after perinatal undernutrition. **Master's thesis, M.I.T. Cambridge, Mass.**

Winick,M., Fish,I. and Rosso,R.(1968). Cellular recovery in rat tissues after a brief period of neonatal malnutrition. **J. Nutr.** 95:623.

Winick,M. and Rosso,P.(1969). The effect of severe early malnutrition on cellular growth of human brain. **Pediatr. Res.** 3:181.

Zamenhof,S., Van Marthens,E. and Margolis,F. (1968). DNA (cell number) and protein in neonatal brain: alteration by maternal dietary protein restriction. **Science**, 160:322-323.